*Postverlagsort Berlin*

# PLANTA

## ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

**J. BONNER**-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK
**R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

**W. RUHLAND** UNTERDEUFSTETTEN — **L. BRAUNER** MÜNCHEN — **E. BÜNNING** TÜBINGEN

50. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT

MIT 41 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 24. JANUAR 1958)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1958

Planta (Berl.)

*Preis DM 23.80*

# Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*.


---

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

*Professor Dr. Wilhelm Ruhland*, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an
*Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität*, oder an
*Professor Dr. E. Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelm-Straße 5.*


**Springer-Verlag**
Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2791


---

50. Band **Inhaltsverzeichnis** 6. (Schluß-)Heft


Seite

Lenski, I., Über die Brutzwiebelbildung auf den Blättern von Drimiopsis kirkii Bak. Mit 18 Textabbildungen . . . . . 579

Brabec, F., Über Beziehungen zwischen Atmungswerten und Zellgrößen. Mit 2 Textabbildungen . . . . . 622

Steffen, K., und F. Walter, Die Chromoplasten von Solanum capsicastrum L. und ihre Genese. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Plastidenmetamorphose. Mit 11 Textabbildungen . . . . . 640

Follmann, G., Über Aufnahme und Bindung von Wasser und Anelektrolyten durch Diatomeen-Zellen. Mit 10 Textabbildungen . . . . . 671

Autorenverzeichnis . . . . . 701


---


Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 50, S. 579—621 (1958)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Freien Universität Berlin

# ÜBER DIE BRUTZWIEBELBILDUNG AUF DEN BLÄTTERN VON DRIMIOPSIS KIRKII BAK.

Von

INGEBORG LENSKI

Mit 18 Textabbildungen

*(Eingegangen am 4. Oktober 1957)*

## A. Einleitung

Das Problem der Organbildung an den Blättern höherer Pflanzen ist in den vergangenen hundert Jahren immer wieder aufgegriffen worden. Neben reinen Aufzählungen (DECANDOLLE 1832, TREVIRANUS 1838, MEYEN 1839, SCHLEIDEN 1849, KERNER 1895) finden sich schon früh die ersten Untersuchungen morphologischer und entwicklungsgeschichtlicher Art (MÜNTER 1845, CRÜGER 1860, MAGNUS 1873, BEINLING 1883 u. a.). In Zusammenfassung dieser und eigener Beobachtungen weist HANSEN (1880) darauf hin, daß man zwischen „normalen" und „künstlich hervorgerufenen" Bildungen unterscheiden müsse. Als „normal" bezeichnet er Knospen, die sich jederzeit oder unter bestimmten Bedingungen aus vorhandenen meristematischen Zellen entwickeln. Derartige Zellkomplexe finden sich in den Blättern an festgelegten und für die Art charakteristischen Stellen. Alle Adventivbildungen, die durch Ent- und Redifferenzierungen ausgewachsener Gewebe hervorgerufen werden, sind „künstlich".

Im allgemeinen bezeichnet man blattbürtige Sprosse ohne Rücksicht auf ihre Entstehung mit dem Begriff der Regeneration (vgl. GOEBEL 1908). Eine ungleich strengere Unterscheidung machen in neuerer Zeit KUPFER (1907), ISBELL (1931) und YARBROUGH (1932, 1934), die aus Meristemresten sich entwickelnde Adventivsprosse, wie z. B. an *Bryophyllum*, *Kalanchoe*, *Cardamine* u. a., nicht mehr unter den Begriff der Regeneration stellen. STOUDT (1934) faßt derartige Bildungen unter dem Begriff der „Gemmipary" zusammen. TROLL (1938) trennt ebenfalls zwischen „spontaner" und „regenerativer" Blattsprossung, weist aber darauf hin, daß sich oft keine scharfe Grenze zwischen den beiden Typen ziehen lasse. Auf diese Tatsache hat schon GOEBEL (1903) im Zusammenhang mit seinen Versuchen an *Begonia rex* hingewiesen. Während GOEBEL jedoch nur aussagt, daß eine „Disposition" bestimmter Stellen bestehe (vgl. 1903, S. 135), ohne diese zu charakterisieren, geht TROLL näher darauf ein. Danach (S. 1120) ist die Knospenbildung, auch wenn sich keine Meristeme nachweisen lassen, wahrscheinlich an

die Teile der Blätter gebunden, die ihren embryonalen Charakter am längsten erhalten, oder sie steht in Beziehung zum Verlauf der stärkeren Leitungsbahnen. Als regenerativ bezeichnet TROLL alle Sprossungen, die an isolierten Blättern auftreten.

In diesem Zusammenhang verdient *Drimiopsis kirkii* Bak. Beachtung, deren Fähigkeit zur Brutzwiebelbildung auf den Blättern von DRAWERT (1952) beschrieben worden ist. Die Knospen können am akroskopen Rand von Verletzungen in den verschiedensten Regionen der Blätter auftreten, wenn sich diese an der intakten Pflanze befinden. Im Gegensatz zu den bekannten Fällen, in denen sich schon an der Mutterpflanze Blattsprosse entwickeln (vgl. TROLL 1938), ist bei *Drimiopsis* kaum anzunehmen, daß latenten Vegetationspunkten vergleichbare Meristemkomplexe vorliegen. Dagegen spricht vor allem der willkürlich zu verändernde Entstehungsort.

Da die Erscheinung einer echten Regeneration — im Sinne von Neubildung — an nicht abgetrennten Blättern sehr selten ist, scheint es von Interessse, die Vorgänge bei *Drimiopsis kirkii* näher zu untersuchen. Es soll daher zunächst die Entwicklungsgeschichte der Sproßregenerate behandelt werden. Ein zweiter Teil umfaßt Versuche über die Bedingungen, unter denen an der intakten Pflanze und an isolierten Blättern Knospen entstehen. — Anhangsweise soll über die sterile Kultur von Blattstückchen berichtet werden, die im Zusammenhang mit dem heute in vieler Hinsicht aktuellen Thema der Gewebekulturen Interesse verdienen.

## B. Literaturübersicht

**1. Die Erscheinung der Blattsproßbildung an der intakten Pflanze.** Es sollen an dieser Stelle nur Angaben genannt werden, bei denen es sich entweder um echte Neubildungen handelt oder bei denen eine Untersuchung noch aussteht.

GOEBEL (1903) erhält Sprosse an den Blättern von *Begonia rex* und verschiedenen *Streptocarpus*-Arten, sobald er sämtliche Vegetationspunkte entfernt. FIGDOR (1918) gibt für *Crassula multicava* an, daß sich nach Durchtrennung der Mittelnerven nicht isolierter Blätter an dieser Stelle am apikalen Wundrand nach längerer Zeit Wurzeln oder Sprosse bilden können. Bei einer Nachuntersuchung durch MCVEIGH (1938) kann nur an abgetrennten Blättern Regeneration eingeleitet werden.

An Monocotylen sind bisher keine entsprechenden Versuche unternommen worden. Soweit das spontane Auftreten von Brutknospen untersucht ist, handelt es sich um Bildungen, die in das Gebiet der „Gemmipary" gehören (vgl. die Angaben bei GOEBEL 1908 und TROLL 1938). Daneben sind eine Reihe ungeklärter Fälle bekannt, die sich fast ausschließlich auf die Familie der Liliaceen erstrecken. So wird für *Scilla Ledieni*, *Sc. Richardiana* (LEDIEN 1889) und *Sc. indica* (LEDIEN 1889, TRIMEN 1898) Brutzwiebelbildung aus der Blattspitze angegeben. BEIJERINCK (1882) beschreibt die gleiche Erscheinung für *Drimia liliacina* (vgl. auch REGEL 1876). Eine Angabe über blattbürtige Zwiebeln an *Allium magicum* und *A. nigrum* findet sich bei GOEBEL (1908). Alle bisher genannten Fälle, sowie die Sprossungen aus der Blattspitze der Amaryllidacee *Cucurligo* (TRIMEN 1898), sind sicher zu den

spontanen Bildungen zu rechnen[1]. Dagegen könnten die von RAUH gefundenen Brutzwiebeln auf der Oberfläche der Zwiebelschuppen von *Hyacinthus fastigiatus* (vgl. TROLL 1938, S. 1133) regenerativer Natur sein. CHOUARD (1931) beschreibt die gleiche Erscheinung auch für die assimilierenden Blatteile der Art: „Chez *Hyacinthus fastigiatus* Bert. la régénération se produit sur les feuilles au niveau du moindre traumatisme et sans qu'elles soient détachées du bulbe. Le fait s'observe souvent en herbier et a été noté dans quelques flores." Es fehlt leider jede Angabe, ob sich diese Bildungen auch außerhalb des Trocknungsvorganges an normal wachsenden Pflanzen hervorrufen lassen. Auch die Abbildung (Pl. IV, fig. B. f.) läßt keine Schlüsse zu.

**2. Die Entwicklung von Blattsprossen an Monocotylenblättern.** Untersuchungen über Regenerationen sind bisher nur aus der Familie der Liliaceen bekannt. CRÜGER (1860) beschreibt die Neubildungen an der Basis von Blattstücken bei *Sanseviera guinensis* W. Um die Leitbündel soll sich ein Cambium entwickeln, das über Callusbildung der Ursprungsort für Wurzeln und Sprosse ist. Abgetrennte Zwiebelschuppen von *Lilium candidum* und *L. longiflorum* regenerieren an der Basis der Blattoberseite (WALKER 1940). Sprosse entstehen aus nahe der Oberfläche liegenden Parenchymzellen unter Beteiligung der adaxialen Epidermis, während Wurzelprimordien sich aus Zellen entwickeln, die an das Leitbündel grenzen. Rein epidermale Bildungen sind nach MAGNUS (1873) die Brutzwiebeln an der Basis der Blattstecklinge von *Hyacinthus orientalis*. Die Entdifferenzierung und Teilung kann in der Epidermis oder auch im Mesophyll beginnen. Je höher am Blatt die Regeneration stattfindet, desto später setzt — im Verhältnis zum Mesophyll — die Teilung in der Epidermis ein. Die Neubildungen, auch die Wurzeln, sollen aus Epidermiswucherungen entstehen. Die Wurzeln entwickeln sich aus Anschwellungen, die dem Schnittrande am nächsten gelegen sind. Die Parenchymzellen liefern die Leitelemente, die mit dem Leitbündel des Blattes anastomosieren. Die Brutzwiebeln sitzen fast immer auf der Ventral- und nur selten auf der Dorsalseite des Mutterblattes. Für eine Reihe anderer Scilloideae stellt CHOUARD (1931, 1933) den epidermalen Ursprung der Adventivzwiebeln fest, die vornehmlich am Grunde isolierter Zwiebelschuppen auftreten.

Die Regeneration der nahe verwandten *Brimeura amethystina* bearbeitet BUVAT (1944) hauptsächlich in zytologischer Hinsicht. Die Herkunft der Sprosse gibt er ebenfalls als rein epidermal an. Dabei sollen während der Primärentwicklung kaum Zellteilungen im Mesophyll stattfinden. Erst später, der Abbildung nach etwa während der Entwicklung des zweiten Blattes, differenzieren sich in diesem Bereich Leitelemente, die die Neubildung mit einem Blattbündel verbinden. Wurzeln entstehen endogen in der Umgebung der Leitbündel des Mutterblattes, treten jedoch in keine direkte Verbindung zu den Brutzwiebeln. Verf. betont, daß die Zellen an der Basis der Blattspreiten, aus denen die Regenerate entstehen, voll differenziert sind. Die Sprosse treten meist auf der Blattoberseite auf, die Wurzeln durchbrechen entweder die Epidermis der Dorsalseite oder die Schnittfläche des Stecklings.

In allen aufgeführten Fällen sind mehrere Zellen an der Ausbildung einer Knospe beteiligt. Regenerationsleistungen, in denen nur eine einzige Zelle den Ausgangspunkt darstellt, sind bei den Monocotylen nicht bekannt.

Die Bildung von Adventivsprossen aus der Basis von Blattstecklingen ist für einige weitere Arten beschrieben worden; es fehlen jedoch Angaben über die Entwicklungsgeschichte. STINGL (1909) stellt Regenerationsfähigkeit außer an der schon untersuchten *Hyacinthus orientalis* auch an *H. candicans* und *Muscari racemosum* fest. *H. orientalis* soll auch aus Blattabschnitten Brutzwiebeln entwickeln. SCHUBERT (1913) findet an den Zwiebelschuppen von *Lilium* und *Fritillaria*

[1] Weitere Angaben finden sich bei HAGEMANN (1931).

Brutsprosse. Eine Aufstellung aller bis dahin bekannten Arten, die sich durch Blattstecklinge vermehren lassen, findet sich bei HAGEMANN (1931). Es fällt auf, daß der größte Teil der genannten Monocotylen zu den Scilloideae gehört.

Die Regeneration an Blättern von *Drimiopsis kirkii* wird von KEMP (1936) angegeben. Er erhält Brutzwiebeln an der Basis der Spreitenteile oder, wie bei *Sanseviera*, an Blattabschnitten. Adventivknospen an verletzten, nicht isolierten Blättern werden nicht erwähnt. Über die Herkunft gibt der Verfasser nur an, die Regenerate entstünden aus Initialkork. Wurzeln sollen an den Blattstecklingen fast nur in unmittelbarem Zusammenhang mit den Brutknospen auftreten. Das Fehlen von primär meristematischen Regionen in den Blättern wird als sicher angesehen.

**3. Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit regenerativer Vorgänge.** Das Problem der Förderung oder Hemmung von Adventivsproßbildungen ist bisher fast ausschließlich an Sproßstecklingen oder Pflanzen mit gemmiparen Blättern untersucht worden. Da, wie GOEBEL (1903) bereits feststellte, der Hauptunterschied zu den echten Neubildungsvorgängen quantitativer Natur ist, sollen diese Arbeiten berücksichtigt werden.

Während WAKKER (1885) und DE VRIES (1891) annehmen, daß die durch die Wurzeln vermittelte Wasserbewegung die Entwicklung der Blattknospen von *Bryophyllum calycinum* hemmt, stellt GOEBEL (1903) fest, daß diese Erscheinungen korrelativ bedingt sind. Die Hemmung wird aufgehoben, sobald entweder die Verbindung zu den Vegetationspunkten unterbrochen wird oder, wenn man die Vegetationspunkte selbst hemmt (GOEBEL 1902, 1903, 1908). Für *Bryophyllum* genügt oft ein Eingipsen der Sproßspitze, um das Austreiben der Blattknospen einzuleiten. Den gleichen Zweck erfüllen das Entfernen des Wurzelsystems oder das Durchschneiden des Mittelnerves oberhalb der Spreitenbasis des Blattes. Die echten Neubildungen auf den Blättern von *Begonia rex* treten erst nach Entfernung sämtlicher Sproßknospen auf. Man kann auch Regeneration einleiten, wenn man die Hauptnerven unterhalb von Gabelungen durchschneidet (GOEBEL 1908, HARTSEMA 1926). Voraussetzung ist allerdings, daß für genügend Feuchtigkeit gesorgt wird. GOEBEL (1905, 1908) vermutet, daß der Anstoß zur Knospenbildung durch Anhäufung von Baumaterialien im Blatt gegeben wird, die im Normalfalle an den Sproß abgeleitet werden. Die gleiche Anschauung vertritt LOEB (1915, 1922, 1924a, 1924b), wenn er von einem Suktionsstrom spricht, der von treibenden Knospen ausgehe. Auch SIMON (1920) stellt fest, daß an den Blättern von *Sinningia* Callusbildung einsetzt, wenn eine bestimmte Konzentration von reduzierendem Zucker im Gewebe erreicht wird.

HARTSEMA (1926) kann keine Stärkeanhäufung in der Umgebung der Regenerationsorte von *Begonia rex* beobachten. Stärkefrei gemachte *Drosera*-Blätter regenerieren im $CO_2$-freien Raum (BEHRE 1929), also unter Bedingungen, in denen eine Nährstoffstauung als auslösendes Moment nicht in Frage kommen kann. CHILD und BELLAMY (1920) aktivieren die Blattrandmeristeme von *Bryophyllum calycinum* durch mehrtägige Unterkühlung von Teilen der Blattstiele. Da diese Blätter im Gegensatz zu abgetrennten in dieser Zeit nicht welken, kommen die Verfasser zu dem Schluß, daß eine Hemmung des Stoffstromes nicht die Ursache für die Entwicklungsanregung sein könne.

Die Entwicklung vorgebildeter Blattknospen läßt sich auch mit anderen Methoden stimulieren. Auf *Bryophyllum crenatum* wirkt Warmbad, Begasung mit Blausäure und zum Teil mit Wasserstoff anregend. *Cardamine pratensis* reagiert außerdem auf Äther-, Chloroform- und Dichloräthylenbegasung (HARIG 1932). Neben diesen, auch in der Frühtreiberei verwendeten Mitteln fördert KAKESITA (1928, 1930) das Austreiben durch Injektionen von Äthylalkohol, Acetaldehyd, Aceton

und Brenztraubensäure. Er kann nachweisen, daß als Folge dieser Behandlung, ebenso wie nach Isolierung der Blätter, sich Verminderung der $CO_2$-Abgabe und Aziditätsänderungen zeigen. Er nimmt daher an, daß das Auswachsen der Knospen mit den Produkten der intramolekularen Atmung gekoppelt ist.

Die die Zellteilung und Callusbildung stimulierende Wirkung von $\beta$-Indolylessigsäure (IES) ist von LAIBACH (1935) und LAIBACH, MAI und MUELLER (1934) beschrieben worden. Die wiedereinsetzende Teilungstätigkeit ausgewachsener Zellen ist eine Folge hoher Wuchsstoffkonzentrationen, geringere fördern das Streckungswachstum. IES bewirkt primär nur undifferenzierte Wucherungen. Eine Organbildung ist nur eine indirekte Wirkung, die im Gefolge der Gewebeneubildung auftreten kann (CHOUARD 1938b; BÜNNING 1953, S. 160—161).

Das Auftreten von Wurzeln und Sprossen nach IES-Einwirkung ist häufig untersucht worden (vgl. die Zusammenfassungen von SWINGLE 1940, 1952), doch nur wenige Arbeiten befassen sich mit Blättern. FISCHNICH (1935) und MOUREAU (1941) erhalten Wurzeln an den Blattstielen und den Blattnerven von *Coleus* nach einer Behandlung mit Wuchsstoffpaste nach LAIBACH (1935). CHOUARD (1938a) stellt unterschiedliche Reaktion von *Begonia*blättern auf verschiedene Wuchsstoffkonzentrationen fest. Es wird die Blattspitze behandelt. Schwache Gaben bewirken Wurzel- und Knospenentwicklung an der Basis des Blattes. Bei steigenden Konzentrationen geht die Polarität der Entwicklungsanregung verloren. Es treten Wurzeln an der Spitze selbst auf, während Sproßknospen überall entstehen. Die stärksten Konzentrationen fördern noch ausgeprägter die Wurzelbildung, hemmen aber gleichzeitig die Sproßdifferenzierung. PREVOT (1939) gießt Begonienpflanzen mit einer aus Taubendung extrahierten Wuchsstofflösung und erhält nach einigen Wochen Adventivsprosse auf den Blättern. Es ist der erste Fall, in dem eine derartige Wirkung über das Wurzelsystem beschrieben wird. Auch an isolierten Abschnitten der Stiele und Spreiten von *Begonia*, *Ficus*, *Hedera* und *Phytonia* läßt sich durch IES-Behandlung eine Wurzelbildung einleiten (BALANSARD und PELLISSIER 1942a, b, c, d). Knospen erhalten die gleichen Autoren (1942e) an Blattteilen von *Achimenes grandiflora*. Die farblosen Blattränder der panaschierten *Sanseviera zeylanica* var. *Laurentii*, die im Normalfalle nicht zu einer Regeneration fähig sind, entwickeln nach Behandlung mit Wuchsstoffpaste chlorophyllfreie Sprosse (THIELKE 1949).

HABERLANDT (1921) hat erkannt, daß die zur Wundheilung führenden Zellteilungen durch Wundhormone induziert werden. Eine wirksame Substanz ist durch ENGLISH, BONNER und HAAGEN-SMIT (1939) rein dargestellt und Traumatin benannt worden. Seither hat es nicht an Versuchen gefehlt, mit Hilfe dieser Stoffe Wachstumsvorgänge einzuleiten. Zu Regenerationen ist es in keinem Fall gekommen (vgl. die Zusammenfassungen von BLOCH 1941 und 1952).

v. DENFFER (1941) hat als erster auf die Tageslängenabhängigkeit der Blattknospenentwicklung von *Bryophyllum crenatum* hingewiesen. Die Untersuchungen von RESENDE (1951), MEYER (1953) und GOETZ (1953) zeigen, daß außerdem eine Anzahl anderer Arten der Gattung *Bryophyllum* nur im Langtag Brutknospen hervorbringen können. KRÖNER (1955) hat die photoperiodische Abhängigkeit der vegetativen Vermehrung in dieser Gattung neuerdings eingehend untersucht. Für die Adventivknospenbildung bei anderen Pflanzen sind bisher keine entsprechenden Vorgänge bekannt geworden.

**4. Die Kultur von Blattgewebe.** Obwohl die ältesten Versuche zu einer Gewebekultur mit Blattzellen ausgeführt worden sind (HABERLANDT 1902), bereitet bis heute noch die Kultur von Blattgewebe die meisten Schwierigkeiten. Es hat sehr lange gedauert, bis nach den Anregungen durch HABERLANDT echte pflanzliche Gewebekulturen gelangen. 1939 berichten GAUTHERET über die Dauerkultur von

normalem Cambium- und White über die von Tumorgewebe. Seitdem sind die Kulturmethoden weitgehend vervollkommnet worden (vgl. Gautheret 1942, White 1943 und 1954). Schmucker (1929) kann in Mesophyllzellen von *Bocconia*, die sich auf Nähragar befinden, Mitosen beobachten. Kandler (1950) ist es nicht gelungen, isolierte Blattzellen und Blattgewebestückchen verschiedener Angiospermen zur Teilung zu bringen.

Erst bei Gautheret (1954) finden sich Angaben über unveröffentlichte Arbeiten mit Blattgewebe. Ledingham et al. ist es danach gelungen, außer Wurzel- und Stengel- auch Blattgewebe von *Linum usitatissimum* zu kultivieren. Nickell hat Dauerkulturen aus den Blättern von *Agave toumeyana* gewonnen. Neuerdings beschreiben Turel und Howes (1956) die Kultur von Gewebe, das von rostinfizierten Blättern von *Carthamus tinctorius* stammt. Die Blätter zeigen Calluswucherungen, in die der Pilz nicht eindringt. Diese Neubildungen lassen sich auf Nährboden weiterkultivieren.

## C. Untersuchungsergebnisse

### *I. Morphologie und Anatomie der Brutzwiebelentwicklung bei Drimiopsis kirkii* Bak.

**1. Methodik.** Die Entwicklung der Adventivbildungen ist an Schnittserien verfolgt worden, die mit dem Mikrotom hergestellt wurden. Der ersten Orientierung dienten Handschnitte. Zur Beobachtung vollständiger junger Anlagen wurde das Binokular herangezogen.

Das Material ließ sich schlecht fixieren. Am besten geeignet waren zwei Gemische: (1) bestehend aus Lösung I: Chromsäure 5 g, Eisessig 50 g, Aqua dest. 320 g. — Lösung II: Formol (40%) 175 g, Aqua dest. 200 g. Beide Lösungen wurden erst bei Gebrauch zu gleichen Teilen gemischt. — (2) Eisessig 5 g, Äthylalkohol (95%) 50 g, Formol (40%) 10 g, Aqua dest. 35 g. An Stelle von Essigsäure wurde in Fixiergemisch (2) teilweise Propionsäure benutzt.

Die 24 Std fixierten Blattstückchen wurden — je nach Fixierung — in Wasser oder 50%igem Alkohol ausgewaschen, über Alkoholreihen in Xylol übergeführt und in Paraffin (Schmelzpunkt 52°) eingebettet. Mit dem Mikrotom wurden Schnitte von 0,010 — 0,012 mm hergestellt. Dünnere Schnitte erwiesen sich als unbrauchbar, da das Gewebe infolge der Größe der ausgewachsenen Zellen und des hohen Gehaltes an Raphiden von Längen bis zu 0,25 mm zu sehr zerriß. Die Kristalle ließen sich nicht herauslösen, weil bereits eine Behandlung mit 0,1% HCl die Zellwände schädigte.

Zur Färbung benutzte ich Hämatoxylin nach Delafield oder Safraninlösung. Häufig wurde eine Gegenfärbung der Zellwände mit „Fast green" (Johansen 1940, S. 80) durchgeführt.

Die Heranzucht des Materials erfolgte außer an der Pflanze selbst auch an in Wasser kultivierten Blattstecklingen (vgl. Teil C, Abschn. II) und an im Durchmesser 4 mm großen Laminastückchen, die steril auf Nährböden kultiviert wurden (Teil C, Abschn. III).

**2. Morphologie und Anatomie des *Drimiopsis*blattes.** Das *Drimiopsis*blatt besteht gewöhnlich aus zwei Teilen, der schwach sukkulenten assimilierenden Lamina und einem der Stärkespeicherung dienenden scheidenförmigen basalen Abschnitt. Beide zusammen sind dem Unterblatt gleichzusetzen, während das Oberblatt auf eine winzige Vorläuferspitze reduziert ist. In ihrer Gesamtheit bilden die Basalabschnitte eine Zwiebel, die den Vegetationskegel einschließt. Die rosettenförmig angeordneten Spreiten älterer Pflanzen verschmälern sich zum Grunde hin allmählich in einen breiten, wenig abgesetzten Stiel. Sehr junge Pflanzen tragen meist länger und ausgeprägter gestielte Blätter. Gestalt und Größe der Assimilations-

organe variieren außerdem je nach allgemeiner Belichtung, Luftfeuchtigkeit und gegenseitigem Abstand. Dicht stehende Pflanzen oder an dunklen Orten gewachsene, sowie in dampfgesättigtem Raum gezogene Exemplare zeigen lange, verhältnismäßig schmale Blattflächen. Eine parallelgehende Änderung der Sukkulenz konnte nicht beobachtet werden.

Die Oberseite der Lamina besitzt auf graugrünem Grund eine dichte, unregelmäßige, dunkelgrüne Fleckung, die auf einen verstärkten Chloroplastengehalt dieser Stellen zurückgeht. Die Anhäufung beschränkt sich auf die zwei an die ventrale Epidermis angrenzenden Zellschichten. Diese sind schwach palisadenförmig ausgebildet. Hauptsächlich unterscheiden sie sich durch kleinere Intercellularräume von dem angrenzenden Schwammparenchym. Alle Zellen sind sehr groß, man kann sie in Schnitten mit dem bloßen Auge unterscheiden (durchschnittlich 0,09—0,27 mm im Durchmesser). Der Inhalt ist schleimhaltig. Die parallel verlaufenden Leitbündel sind von englumigen Parenchymzellen umgeben, die eine Streckung in der Längsrichtung aufweisen. In den subepidermalen Zellagen beider Seiten sind raphidenhaltige Idioblasten eingelagert. Auch in der Leitbündelregion treten Raphidenzellen auf. Die größten Dimensionen, nämlich etwa 0,25 mm, erreichen die Kristallnadeln in den äußeren Schichten der oberen Blatthälfte. Die dazugehörigen Idioblasten zeigen im Durchschnitt die zehnfache Länge der normalen Parenchymzellen. Im Querschnitt weichen sie nicht von der Größe der übrigen Zellen ab. Die im Innern des Blattgewebes gelegenen Raphidenzellen entsprechen in Ausdehnung und Gestalt den normalen Parenchymzellen. Im basalen Abschnitt der Spreite bleiben die Nadeln ebenfalls kürzer. Diese Erscheinung ist verständlich, wenn man bedenkt, daß die Idioblasten sich in der interkalaren Wachstumszone an der Basis des Blattstieles ausdifferenzieren; dementsprechend sind die Raphiden der Blattspitze die ältesten.

Die Epidermen beider Seiten bestehen aus schwach verzahnten Zellen, die in der Längsrichtung gestreckt und in Reihen angeordnet sind. Chlorophyll enthalten nur die Schließzellen. Gewöhnlich unterscheiden sich die Zellen der Dorsal-Epidermis durch einen regelmäßigeren Bau und eine größere Länge im Verhältnis zur Breite von denen der Ventralseite. Beide Seiten tragen Spaltöffnungen, doch ist die Anzahl auf der Unterseite etwa dreimal so groß wie die der Oberseite.

Der basale Abschnitt zeigt einen ähnlichen Bau wie die Lamina. Die Epidermen sind nicht verzahnt. Spaltöffnungen befinden sich nur auf der Dorsalseite. Die Zellen beider Epidermen unterscheiden sich in diesem Abschnitt nicht in Form und Größe. Die Anzahl der Zellschichten ist gegenüber dem assimilierenden Abschnitt vermehrt. Die Basisteile der Blätter führen meist kein Chlorophyll und sind mit geschichteten Stärkekörnern von beträchtlicher Größe vollgestopft. Kristallzellen finden sich an den gleichen Stellen wie in der Spreite, erreichen aber nicht die gleichen Maße.

Während die Lamina nach Abschluß des Längenwachstums ausschließlich aus differenzierten Zellen besteht, zeigt die Stärke speichernde Basis an ihren Rändern ein fast unbegrenztes Wachstum. Selbst nachdem die Spreite abgestorben ist, sind sie oft noch meristematisch. Durch das andauernde Randwachstum entwickelt sich dieser Blatteil allmählich zu einer geschlossenen Scheide.

**3. Die Brutzwiebelentwicklung.** Brutzwiebeln können an allen Teilen des *Drimiopsis*blattes auftreten. Die Regeneration an der kein Chlorophyll führenden Zwiebelschuppe ist nicht untersucht worden; es kann aber die Entwicklung von Sproßknospen beobachtet werden, wenn der Zwiebelkuchen und die Schuppenbasis abfaulen.

An der Lamina entstehen Adventivknospen meist als Folge stärkerer Verletzungen, wie sie Brüche oder Schnitte darstellen. Bildungsort ist in der Regel der apikale Wundrand. Am besten eignen sich zur Anregung von Regenerationsprozessen Querschnitte oder Querbrüche, durch welche Leitbündel unterbrochen werden. Längswunden oder Nadelstiche haben wenig oder keinen Erfolg, auch wenn sie die Lamina durchstoßen (vgl. Teil C/II). In verschiedenen Fällen sind allerdings Brutzwiebeln ohne eine sichtbare Verletzung aufgetreten (vgl. auch DRAWERT 1952). Die mikroskopische Untersuchung solcher Stellen an Handschnitten hat keine Narbenbildung erkennen lassen. Äußerlich ist die Umgebung derartiger Regenerationsorte durch Chlorophyllmangel gekennzeichnet, sie erscheint gelblichweiß. Fluorescenzoptische Beobachtung ergibt eine Chlorophyllfluorescenz der Schließzellen und eine sehr schwache in den subepidermalen Schichten. Die Assimilationszellen dieser Stellen sind mit farblosen Körnchen vollgestopft, die sich mit Jodjodkalium als Stärke identifizieren lassen. Eine Schichtung ist nicht erkennbar, in der Größe gleichen sie der Assimilationsstärke in den Chloroplasten, sind aber stark vermehrt. Die Ursache dieser Anhäufungen konnte nicht festgestellt werden, es könnte sich um Störungen in den Siebröhren handeln. Auch das selten beobachtete Vorkommen von Regeneraten am basalen Schnittrand läßt sich vielleicht auf diese Weise erklären. In einem dieser Fälle befand sich die Knospe in 1 mm Abstand von der Wunde. Spuren einer mechanischen Einwirkung ließen sich nicht erkennen.

Verletzt man mit der Mutterpflanze verbundene Blätter durch Schnitte oder Brüche, so zeigt sich als primärer Vorgang ein Wundverschluß. Dieser tritt am apikalen und am basalen Wundrand gleichmäßig ein. Es teilen sich die intakt gebliebenen Zellen, die der Verletzung am nächsten liegen, ein- bis zweimal parallel zur Wundfläche. Man findet dieses Stadium fünf bis sieben Tage nach dem Eingriff. Bricht man die Blätter so an, daß nur eine Epidermis und das Parenchym auseinandergerissen werden, können die Wundränder fast unsichtbar verheilen. Teilungen sind dann nur in der Epidermis selbst und in den angrenzenden Zellschichten wenige Lagen tief zu finden. Die lediglich voneinander gelösten, unverletzten Parenchymzellen verwachsen narbenlos. Erst am Leitbündel ist die Rißstelle wieder zu erkennen, in deren Nähe ebenfalls Teilungen stattgefunden haben. Die neugebildeten Zellen zeigen zum Teil in ihren Wänden tracheidale Versteifungen. Blattstecklinge schließen die Wundfläche in gleicher Weise ab. Unterschiede finden sich nur in sterilen Kulturen von Blattstückchen auf Nährböden; hier können den beschriebenen Vorgängen Teilungen in der Epidermis vorausgehen, die nicht im Zusammenhang mit der Vernarbung stehen. Die Erscheinungen der Wundheilung und der regenerativen Prozesse sind in diesem Falle in ihren Anfangsstadien nicht scharf zu trennen.

Mit der Heilung — die neuentstandenen Zellwände verkorken — ist ein teilweiser Entwicklungsabschluß erreicht. Alle folgenden Vorgänge können in drei verschiedenen Richtungen verlaufen: (1) Es finden keine weiteren Teilungen statt. Zu junge Blätter, die sich noch im Wachstum befinden oder gerade ausgewachsen sind, stellen zu diesem Zeitpunkt die Teilungstätigkeit ein, wenn sie nicht isoliert sind. Es ist auch nicht gelungen, eine Weiterentwicklung von oberflächlichen Verletzungen oder Nadelstichen zu erzielen, wie sie DRAWERT (1952) beschreibt. Fast immer ist die Entwicklung am basalen Wundrand in diesem Stadium abgeschlossen. (2) Ausgehend vom apikalen Rand des unterbrochenen Gewebes finden callusartige Wucherungen statt, die in den obersten Schichten verkorken können. Solche undifferenzierten Verdickungen stellen nach einiger Zeit das Wachstum ein. Bleiben Teile der äußeren Gewebepartien unverkorkt, so kann es nach längerer Zeit (z. B. $^1/_2$ Jahr) zu einer Bildung von Vegetationspunkten kommen. (3) An die Narbe angrenzende Epidermiszellen beginnen sich zu teilen. Es bilden sich Aktivitätszentren heraus, die sich nach kurzer Zeit als Meristemhöcker über ihre Umgebung erheben. Aus diesen können Adventivknospen entstehen. Im gleichen Zeitraum finden im allgemeinen auch im Mesophyll und im Leitbündelparenchym Zellvermehrungen statt. Für die Ausdifferenzierung der Vegetationskegel ist allein das Verhalten der Epidermis ausschlaggebend. Die Wurzeln an der Basis von Blattstecklingen und Wurzelanlagen, die in Blattstückchenkulturen entstehen, haben endogene Initialen. Sie entwickeln sich aus Zellen des Leitbündelparenchyms.

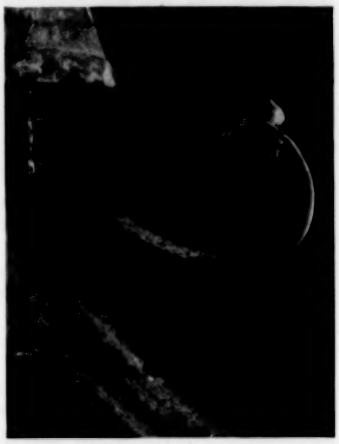

Abb. 1. Brutzwiebelbildung auf beiden Seiten eines Blattes am gleichen Schnitt, aufgenommen an einer invers kultivierten Pflanze

An nicht isolierten Blättern sind — unabhängig von der Blattregion — gleichzeitig Ventral- und Dorsalepidermis befähigt, sich an diesen Stellen zu entdifferenzieren. Aber nur selten kommen am gleichen Schnitt auf beiden Seiten Brutzwiebeln zur vollen Ausbildung (Abb. 1). In der Regel werden einige Anlagen auf einer der Epidermen entwickelt, doch kann nach den bisherigen Ergebnissen (Teil C/II) keine Seite als bevorzugt gelten. Dagegen findet die Anlegung von Sproßknospen an der Basis von Blattstecklingen vorwiegend auf der Blattoberseite statt. Brutzwiebeln auf der Blattunterseite sind hier eine Seltenheit.

Während an Blättern, die noch normal mit der Mutterpflanze im Zusammenhang stehen, die Knospenentwicklung auf den Wundrand

selbst beschränkt bleibt, können an isolierten Blättern Adventivzwiebeln noch in 1 cm Entfernung von der Basis auftreten. Wurzeln werden nur direkt über der Abtrennungsstelle angelegt. Sie durchbrechen entweder die dorsale Epidermis oder treten auf der Schnittfläche aus. An nicht abgetrennten Blättern sind im Verlauf der Regenerationsprozesse nie Wurzelanlagen aufgetreten.

Kultiviert man Blattstückchen auf einem Nährboden, so beobachtet man, daß die Teilungsvorgänge ebenfalls in Randnähe einsetzen und von dort aus auf die gesamte Oberfläche übergreifen. Zu Beginn sind die Randhöcker den mittleren in der Entwicklung voraus. Allmählich gleichen sich die Unterschiede aus,

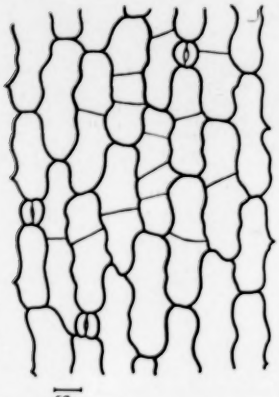


Abb. 2

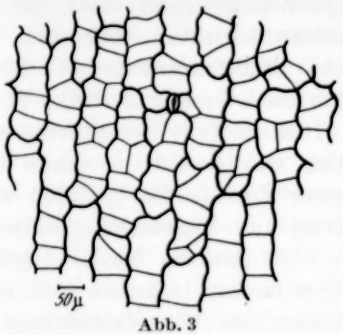


Abb. 3

Abb. 2. Erste Teilungen in der Oberepidermis (Aufsicht)
Abb. 3. Aufsicht auf das Anfangsstadium eines Teilungszentrums in der Oberepidermis eines Blattstückchens, das eine Woche auf einem Nährboden kultiviert wurde

oder das Größenverhältnis wird umgekehrt. Dabei verhält sich jedes Blattstückchen anders als die übrigen. Im Gegensatz zu verwundeten Blättern ist die Ausdifferenzierung von Meristemhöckern hier nicht an die Partien des Wundrandes gebunden, die nach der ursprünglichen Lage im Blatt bevorzugt wären. In der Regel wird die gesamte Fläche in die Entwicklung einbezogen. Doch wachsen stets nur wenige Anlagen zu fertigen Brutzwiebeln aus.

Der Entstehung eines Vegetationskegels außerhalb eines primären Meristems muß die Entdifferenzierung der ausgewachsenen Zellen vorausgehen, in deren Verlauf der embryonale Charakter des Gewebes wiedergewonnen wird. Diese Vorgänge beginnen mit einer Wanderung des Kernes in das Innere der Zellen. Dort ist er an Plasmasträngen aufgehängt. Auf die ersten Teilungen folgt keine Volumenzunahme des Zellraumes. Es findet vor allem Plasmawachstum statt, und der Anteil der Vacuole vermindert sich. WINKLER (1903) bezeichnet derartige Zellvermehrungen als Furchungen. Doch haben diese Vorgänge mit einer echten Furchung im embryologischen Sinne nichts zu tun. Während im Mesophyll die Entdifferenzierung mit einer Abnahme des Chlorophyll-

gehaltes gekoppelt ist, kann in der Epidermis keine auffällige Veränderung des Zellinhaltes beobachtet werden außer der intensiveren Färbbarkeit des Plasmas. Spaltöffnungen werden nur selten in die Entdifferenzierung mit einbezogen.

Die ersten Mitosen in der Epidermis teilen die Zellen etwa quer zur Längsachse (Abb. 2 und 3). Dabei stehen die neugebildeten Wände entweder senkrecht oder schräg auf denen der Mutterzelle. Der Winkel zwischen alter und junger Wand ist nicht abhängig von der Breite der Zelle. In den schmaleren Zellen der Blattunterseite finden sich ebensohäufig Abweichungen von einer genauen Querteilung wie in der Blatt-

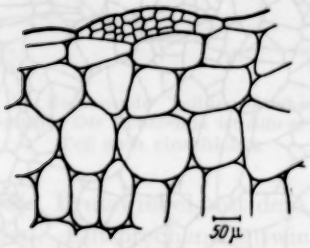


Abb. 4

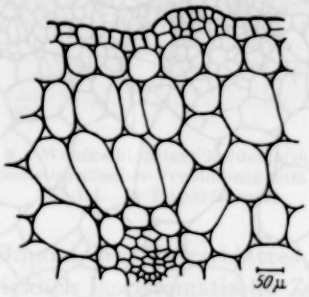


Abb. 5

Abb. 4. Längsschnitt durch ein Blattstückchen mit einem jungen Gewebehöcker. In dieser Richtung ist bisher nur eine Epidermiszelle an der Ausbildung beteiligt

Abb. 5. Querschnitt durch ein der Abb. 4 entsprechendes Stadium. Man erkennt die Beteiligung von vier nebeneinanderliegenden Epidermiszellen

oberseite. Sehr oft entstehen bei der ersten Mitose ungleich große Tochterzellen. Die Teilungsrichtung in den Abkömmlingen der ursprünglichen Epidermiszellen verläuft nicht mehr gleichmäßig. Die Richtung hängt in gewissem Grade von der Längserstreckung dieser Zellen ab, doch müssen andere Faktoren daran beteiligt sein. Das zukünftige Meristemzentrum, das wahrscheinlich schon zu diesem Zeitpunkt festgelegt ist, spielt sicher eine ausschlaggebende Rolle. So konzentriert sich die Teilungshäufigkeit sehr früh auf bestimmte Stellen. Doch folgt im allgemeinen auf den ersten ein zweiter transversaler Teilungsschritt. Die anschließenden Fächerungen verlaufen scheinbar regellos bis zur Erreichung eines bestimmten Volumens.

Diese Vorgänge setzen immer in einer oder mehreren Gruppen benachbarter Zellen zugleich ein. Etwas später werden auch weiter entfernte Zellen miteinbegriffen, die meist nach wenigen Mitosen wieder in den Ruhezustand übergehen, ohne ein Streckungswachstum zu erfahren. Es besteht in der Zone des Wundrandes ganz allgemein eine Tendenz zur Verkleinerung des Zellvolumens.

An der Bildung der Meristemhöcker sind stets mehrere der ursprünglichen Epidermiszellen ganz oder teilweise beteiligt (Abb. 4, 5 und 6). Die

Anzahl wechselt. Auch die Zahl der Aktivitätszentren, die sich entlang eines Wundrandes entwickeln, ist unterschiedlich. Der Zeitraum, der zwischen dem auslösenden Reiz und der Ausgliederung von Feldern vermehrter Teilungsintensität liegt, schwankt von acht Tagen bis zu drei Wochen. Die Protuberanzen entstehen alle in etwa der gleichen Entfernung vom Wundrand, wenn es sich nicht um isolierte Blätter handelt. Eine Beziehung der Anlagen zum Verlauf der Blattnerven läßt sich nicht erkennen (Abb. 6).

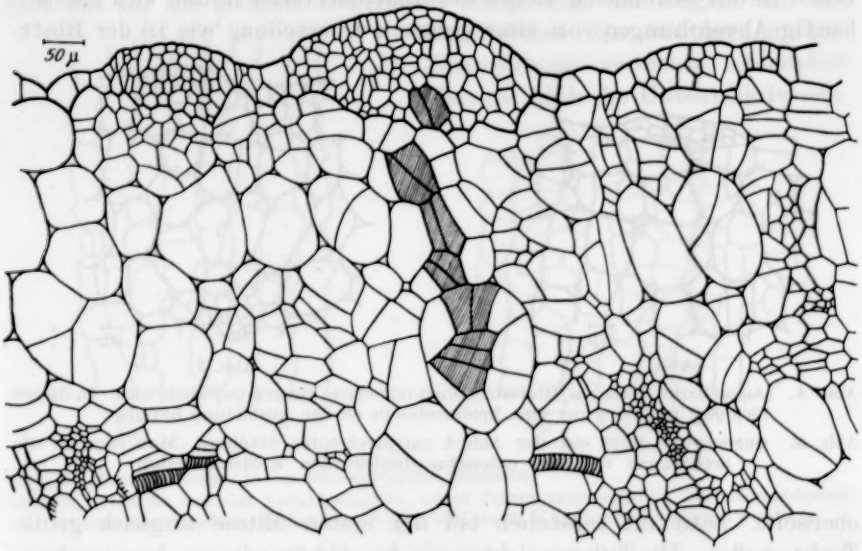


Abb. 6. Junge Meristemhöcker in unterschiedlicher Anordnung zu den Leitbündeln. Der mittlere läßt bereits eine Verbindung zu einem Bündel erkennen, die aus gestreckten Zellen besteht. In der Umgebung sind bereits Zellen mit tracheidalen Wandversteifungen ausgebildet

Die Entdifferenzierung im Mesophyll setzt zu verschiedenen Zeitpunkten ein. In der Regel beginnen die Teilungen, ehe das Epidermisgewebe mehrschichtig wird (Abb. 7). Doch kann man Meristeme finden, die anfangen sich vorzuwölben, ohne daß im Parenchym eine Teilung zu erkennen ist (vgl. Abb. 4 und 5). Andererseits kommt es vor, daß die Entwicklung im Innern des Blattes mit der der äußeren Zellschicht Schritt hält oder diese übertrifft. Es entstehen dann Bilder, wie sie Abb. 8 zeigt: ein nur zwei- oder dreischichtiger Höcker weist schon eine meristematische Verbindung zum Leitbündel auf, die in der subepidermalen Schicht und am Bündel aus gestreckten Zellen besteht.

Die ersten Mitosen in Mesophyllzellen treten in der ersten subepidermalen Lage auf. Gleichzeitig beginnt die Tätigkeit im Bereich des Leitbündelparenchyms. Besonders lebhaft ist diese in Blattstückchen,

die auf Nährböden kultiviert werden, und im basalen Abschnitt von Blattstecklingen, da sich hier Wurzelanlagen ausdifferenzieren.

Das Gewebe der zukünftigen Vermehrungsknospe wird *allein* von der Epidermis geliefert. Im Mesophyll entstehen nur die Leitungsbahnen,

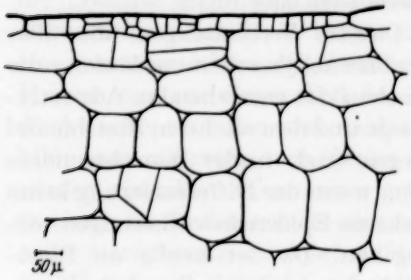


Abb. 7. Beginnende Teilungstätigkeit im Mesophyll. Die Epidermis ist zum größten Teil noch einschichtig

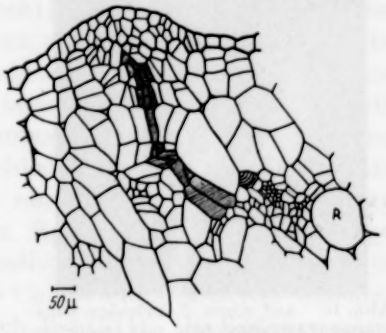


Abb. 8. Wenigschichtiger Epidermishöcker mit meristematischer Verbindung zum Leitbündel. *R* Raphidenzelle

die die Brutzwiebel mit dem nächsten Bündel des Mutterblattes verbinden. Entsprechend entwickeln sich wirklich meristematische Zellen stets in der Nähe einer Epidermisprotuberanz. Die Anastomosen sind als gestreckte, plasmareiche Zellen erkennbar, wenn sich das erste Blattprimordium ausgliedert. Sehr häufig verlaufen sie innerhalb des epidermalen Gewebes oder dicht darunter, parallel zur Oberfläche, in die Nähe der Vernarbung, so daß die gestreckten Zellen nur im Längsschnitt erkennbar sind (Abb. 9). In Querschnitten werden sie als eine Gruppe kleiner, plasmareicher Zellen von rundlicher Form sichtbar. Sie treten mit Knäueln tracheidaler Zellen in Verbindung, die sich während der Wundheilung in der Umgebung der durchtrennten Blattnerven ausdifferenziert haben.

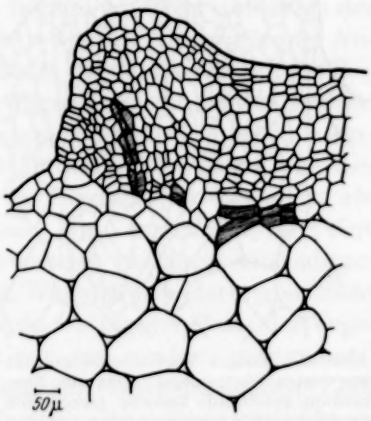


Abb. 9. Aus gestreckten Zellen bestehende Leitbündelanlage an der Basis einer Epidermiswucherung

Die Ausbildung tracheidaler Wandverstärkungen in Zellkomplexen in der Nähe der Narben findet immer nur in geteilten Zellen statt. Meist differenziert nur ein Teil der Abkömmlinge einer Zelle Versteifungen aus. Da die Richtung der Spangen in den einzelnen Zellen verschieden ist, entstehen unregelmäßige, knäuelartige Bildungen. In der Regel treten sie in der Umgebung der Leitbündel, besonders in deren Parenchym auf.

Allerdings kann man sie vereinzelt auch völlig isoliert in subepidermalen Schichten finden. Narben, an denen keine regenerativen Vorgänge stattgefunden haben, zeigen selten und dann nur schwach ausgebildete tracheidale Knäule, unabhängig davon, ob das Leitbündel verletzt gewesen ist oder nicht.

Abb. 10. Auf einem Nährboden kultiviertes Blattstückchen mit mehreren Brutzwiebeln

Direkte Verbindungen, die über die Parenchymzellen verlaufen, die zwischen der entstehenden Adventivknospe und dem nächsten Blattbündel gelegen sind, findet man besonders dann, wenn der Differenzierung keine stärkeren Epidermiswucherungen vorausgehen. Das ist häufig an Blattstecklingen und in Gewebekulturen der Fall. Ebenso verlaufen die Anastomosen, wenn die Brutzwiebel direkt über einem Leitbündel entsteht.

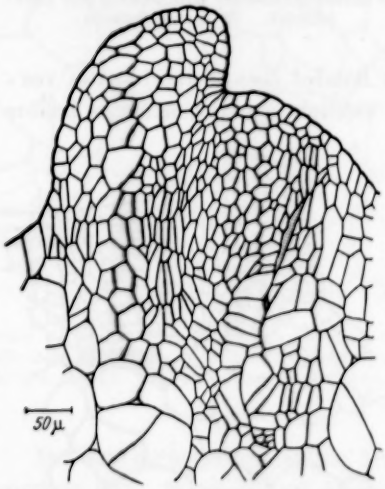


Abb. 11. Junger Vegetationskegel mit der ersten Blattanlage. Das zur Neubildung gehörende Gewebe trennt sich durch einen Riß von der undifferenzierten Wucherung. Die primäre Leitbündelanlage ist zum Teil erkennbar

Von den oft zahlreich angelegten Meristemhöckern stellen die meisten schon nach kurzer Zeit ihr Wachstum ein, wenn es nicht zu stärkerem Calluswachstum kommt. Ein weiterer Teil bleibt nach der Anlage des ersten Blattes stecken. Nur sehr wenige entwickeln sich zu fertigen Brutzwiebeln. An Schnitten oder Brüchen in nicht isolierten Blättern sind es im Höchstfalle drei oder vier, in der Regel nur ein bis zwei (vgl. dazu auch Abb. 2 bei DRAWERT). An Blattstecklingen können sie in wesentlich größerer Anzahl auftreten, doch sind diese Fälle hier, wie auch an steril kultivierten Laminastückchen (Abb. 10), als Ausnahmen zu betrachten.

Die Entwicklung einer Adventivknospe beginnt mit der Ausgliederung eines Schuppenblattes aus den äußeren Zellschichten einer meristematischen Epidermiswucherung. Die Stellung der Blattprimordien zum Wundrand und zur Längsachse des Mutterblattes ist unterschiedlich. Darin stimmt *Drimiopsis* mit *Hyacinthus orientalis* (MAGNUS 1873) und *Brimeura amethystina* (BUVAT 1944) überein, während CHOUARD (1931) für eine Reihe anderer Scilloideen eine adossierte Anlage zum Wundrand angibt.

Die Größe der Protuberanz, die zur Bildung eines Blattes übergeht, kann sehr differieren. Entsprechend variiert auch die Zeitspanne bis zum Beginn des ersten Plastochrons. Im günstigsten Fall findet man dieses Stadium nach etwa drei Wochen [vgl. S. 587 (3)]. Meist umfaßt der Höcker dann nur eine kleinere Anzahl Zellen, und es beteiligt sich fast der gesamte meristematische Komplex an der Ausdifferenzierung des Primordiums. Ist durch länger andauerndes, ungegliedertes Wachstum eine umfangreichere Wucherung entstanden, so entwickelt sich die Knospe nur aus einem Teil des Gewebes. In Ausnahmefällen können direkt nebeneinander zwei nach verschiedenen Seiten gerichtete Blattbildungen auftreten, von denen eine nach kurzer Zeit das Wachstum wieder einstellt. Wenn eine größere Epidermisfläche callusartig gewachsen ist, findet man in einem allmählich verkorkenden Gewebe einzelne meristematische Inseln. Starke Callusbildungen treten besonders im Winter und Frühjahr auf (vgl. auch Teil C/II). Die Bildungszentren in diesen Gewebewucherungen bestehen in ihrer ganzen Tiefe aus meristematischen Zellen. Sie zeichnen sich vor den übrigen durch größeren Plasmareichtum aus. In späteren Entwicklungsstadien trennen sie sich häufig durch Risse von den nicht entwicklungsfähigen Abschnitten (Abb. 11).

Die Differenzierung der Blattanlage beginnt in einem außerhalb der Mitte des Höckers gelegenen Bereich. Die in der Regel reihenförmige Anordnung der Zellen in der Protuberanz bleibt dabei erhalten, da die Teilungen nur in der äußersten Schicht vorwiegend antiklin, in den inneren dagegen periklin erfolgen (Abb. 12). Schon während des nur kurz andauernden Spitzenwachstums tritt eine Förderung der Dorsalseite der Anlage auf. Außer einer schnelleren Teilungsfolge ist vor allem ein stärkeres Streckungswachstum zu erkennen. Die Ventralfläche zeigt eine verzögerte Teilungsintensität und behält dadurch viel länger den embryonalen Charakter. — Durch die einseitige Wachstumsförderung entsteht ein kapuzenförmiges Schuppenblatt, an dessen innerer Basis der Vegetationspunkt liegt. Er besteht anfangs nur aus wenigen meristematischen Zellen und weist keinerlei Schichtung auf. Auch die äußerste Zelllage teilt sich periklin. Eine Leitbündelanlage, die sich aus gestreckten, plasmareichen Zellen zusammensetzt, kann schon in der ungegliederten Protuberanz vorhanden sein. Dieser zuerst angelegte Strang verläuft stets direkt in das Blattprimordium. Unterhalb des Vegetationskegels gliedern sich derartige Zellen erst aus, wenn dieser stärker zu wachsen beginnt. Das Erstarkungswachstum setzt hier ein, wenn die Blattanlage zu einem vorwiegend basal-interkalaren Wachstum übergeht. Der Vegetationskegel wölbt sich allmählich vor und zeigt gegen Ende des ersten Plastochrons seine endgültige Struktur. Es bildet sich eine einschichtige Tunica, die sich ausschließlich antiklin teilt.

Das zweite Plastochron beginnt mit periklinen Teilungen in der äußersten Korpusschicht seitlich von der eigentlichen Kegelspitze. Die Tunicazellen folgen mit antikliner Vermehrung. Schon vor dem Wachstumsbeginn ist die Lage des zukünftigen Primordiums durch stärkere Anfärbbarkeit der an der Bildung beteiligten Zellen zu erkennen. Bereits während des kurz andauernden Spitzenwachstums unterscheiden sich Ventral- und Dorsalseite der Anlage in der Größe und Vacuolisation der Zellen. Die Epidermis und die oberen Mesophyllschichten der Innenseite sowie die Blatträndер bleiben viel länger embryonal als das übrige

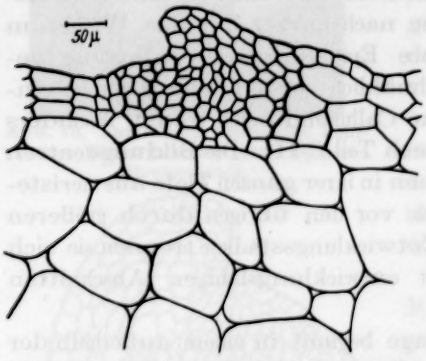


Abb. 12. Ausgliederung der ersten Blattanlage. Die reihenförmige Anordnung der Zellen innerhalb des Höckers ist noch zu erkennen

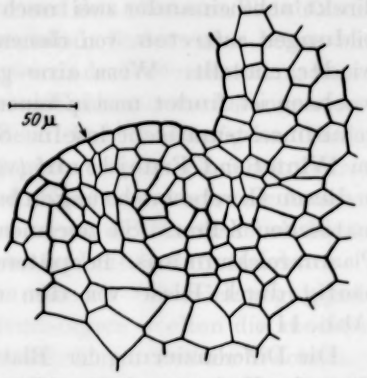


Abb. 13. Beginnende Ausgliederung der zweiten Blattanlage. Der Pfeil bezeichnet die Grenze zwischen Vegetationskegel und Primordium

Gewebe (Abb. 13). Das Längenwachstum des Sprosses ist minimal, so daß das jüngste Blatt mit seiner äußeren Basis an die innere des vorhergehenden grenzt.

Das erste Blatt bleibt stets schuppenförmig; es bildet keine Lamina aus. Eine Vorläuferspitze ist ebenfalls nicht zu erkennen, obgleich sie an den folgenden Blättern im ausgebildeten Zustand immer zu unterscheiden ist. Ein abgesetzter Spreitenteil entwickelt sich am dritten Blatt der Brutzwiebel. Ist dieses Stadium erreicht, so werden keine Schuppen, sondern nur noch Laubblätter angelegt. Solange die Adventivknospe vom Mutterblatt ernährt wird, stockt das Wachstum nach der Ausbildung von zwei oder drei vollständigen Blättern (vgl. Abb. 4 bei DRAWERT). Es tritt eine Ruheperiode ein, die beendet ist, sobald die Brutknospe auf feuchtes Substrat gelangt. Die Zwiebeln können an der Pflanze selbst Erbsengröße erreichen. Sie sind isoliert aber schon entwicklungsfähig, wenn sie viel kleiner sind und keine Blätter mit Lamina ausgebildet haben.

Die äußeren Blätter älterer Pflanzen entwickeln an ihrer Basis in der Regel eine geschlossene Scheide, die maximal bis zum Stielansatz reichen

kann. Beobachtungen zeigten, daß das älteste Blatt einer Pflanze im allgemeinen mit seinen Rändern wenigstens ein Stück verwachsen ist. Die Höhe der Verwachsungszone ist sehr unterschiedlich und hängt von der Wachstumsintensität des Vegetationskegels und der jüngeren Blattanlagen ab.

Die Anlage der Blätter erfolgt nicht ringförmig (Abb. 14). Erst wenn die Blätter interkalar an der Basis wachsen, beginnt die scheidenartige Ausbildung durch vermehrte Teilungen in den Blatträndern. Diese bleiben im Bereich der Zwiebel solange entwicklungsfähig, bis eine vollständige, geschlossene Scheide erreicht ist. Das Vorhandensein einer Lamina ist davon unabhängig. In der Regel stirbt sie vor Eintritt des Endstadiums ab. Sind die Ränder des äußersten Blattes an der Basis nicht geschlossen, so findet man auch bei den jüngeren Blättern keine Scheidenentwicklung. Diese ist immer bei den ältesten Blättern am weitesten fortgeschritten. Wie unterschiedlich die Scheidenausbildung im einzelnen sein kann, zeigen Tabelle 1a und b. Außerdem kommt es vor, daß bei plötzlicher starker Volumenzunahme der Zwiebel schon vorhandene Verwachsungen wieder aufreißen. Wie Tabelle 1b zu entnehmen ist, bilden auch junge Brutzwiebeln röhrenförmige Scheiden. Das Primärblatt beteiligt sich daran nicht, da seine Lebensdauer gewöhnlich zu kurz ist.

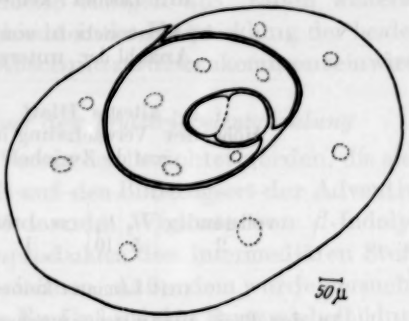


Abb. 14. Schematischer Querschnitt durch eine Zwiebel in der Höhe der äußeren Korpusschicht des Vegetationskegels

Die Rosette einer *Drimiopsis*pflanze weist eine spirodistiche Anordnung der Blätter auf. Es stehen sich jeweils zwei aufeinanderfolgende Blätter gegenüber, während die nächste Zweiergruppe versetzt zu der ersten entsteht. Einzeln steht nur die Primärschuppe. Das zweite Blatt einer jungen Brutzwiebel wird stets in einem Winkel von etwa 100° zum ersten angelegt.

Alle Teile der Pflanze, ausgenommen die Vegetationskegel, enthalten reichlich Raphiden-Idioblasten. Diese werden in den Streckungszonen ausdifferenziert. Es beginnt mit einer Ablagerung von Kristallnadeln in normalen jungen Parenchymzellen des Blattes. Die Zellen verlieren damit ihre Teilungsfähigkeit. Sind die umgebenden Mesophyllzellen noch einer Vermehrung fähig, wie es in den subepidermalen Schichten stets der Fall ist, so entstehen die beschriebenen Riesenzellen. In der Nähe der Leitbündel bilden sich die Idioblasten erst aus, wenn das Differenzierungswachstum abgeschlossen ist. Diese heben sich daher größenmäßig

Tabelle 1. *Verwachsungsverhältnisse der Blattränder an den Blättern im Bereich der Zwiebeln*

a) Ältere Pflanzen
Anzahl der untersuchten Pflanzen: 20

| ältestes Blatt Höhe der Verwachsung in bezug auf die Zwiebel | | | | | übrige Blätter mit Verwachsungen (Anzahl der Pflanzen) |
|---|---|---|---|---|---|
| vollständig | 1/2 | 1/4 | ca. 1 mm | nicht | 13 |
| 5 | 10 | — | 1 | 4 | |
| mit Lamina: keines | | | | | 3[1] |

b) Brutzwiebeln von 3—5 mm Durchmesser
Anzahl der untersuchten Pflanzen: 20

| ältestes Blatt Höhe der Verwachsung in bezug auf die Zwiebel | | | | | übrige Blätter mit Verwachsungen (Anzahl der Pflanzen) |
|---|---|---|---|---|---|
| vollständig | 1/2 | 1/4 | ca. 1 mm | nicht | 15 |
| 2 | 5 | 10 | 1 | 2 | |
| mit Lamina: keines | | | | | keines[1] |

[1] An der Basis zusammengewachsene Blätter mit noch vorhandener Spreite.

nicht aus dem übrigen Gewebe heraus. — In den Blattanlagen findet man die ersten Raphidenablagerungen zu Anfang des nächsten Plastochrons und zwar in subepidermaler Lage unterhalb des Bereiches der Vorläuferspitze. In späteren Entwicklungsstadien unterscheidet sich der Inhalt der Raphidenzellen in der Anfärbbarkeit von den übrigen Zellen. Mit „Fast-green" wird der ganze Raum einheitlich zartgrün; mit Hämatoxylin nach DELAFIELD ohne Gegenfärbung tritt häufig ein bräunlicher Farbton auf. Die ausgewachsenen Idioblasten enthalten außer Calciumoxalatnadeln reichlich Schleim.

Zum Abschluß des Kapitels über die Entwicklungsgeschichte und die Anatomie der Brutzwiebeln möchte ich auf die Herkunft der Wurzeln, die zu diesen Knospen gehören, eingehen. Sie werden stets im Gewebe der Brutzwiebel selbst angelegt, entstehen also in der üblichen Weise als sproßbürtige Adventivwurzeln aus dem Zwiebelkuchen. — Aus dem Gewebe des Mutterblattes differenzieren sich nie Wurzelanlagen, wenn sich dieses im Zusammenhang mit der Pflanze befindet. Anders ist es an Blattstecklingen und an sterilen Kulturen kleiner Blattstückchen. In beiden Fällen gehen aus dem Leitbündelparenchym Wurzelanlagen hervor. Während sie in Blattstecklingen auf das Gebiet direkt über dem basalen Wundrand beschränkt bleiben, ist in Gewebekulturen praktisch die gesamte entsprechende Zone des Blattstückchens

dazu befähigt (vgl. Teil C/III). Obgleich an der Basis von Stecklingen mehrere Wurzelanlagen vorhanden sein können, wachsen nie mehr als zwei aus. Diese aus dem Mutterblatt gebildeten Wurzeln entstehen nicht in direkter Verbindung mit den Sproßregeneraten, wie es KEMP (1936) für *Drimiopsis* beschreibt. Da Wurzel- und Sproßregenerat stets mit einem Leitbündel des Mutterblattes in Verbindung treten, kommt es natürlich vor, daß beide zum gleichen Bündel gehören. Dennoch besteht keine direkte Beziehung; das geht auch schon aus der Tatsache hervor, daß im Zusammenhang mit der ganzen Pflanze keine Wurzelbildung auftritt. Auch bei Kultur im dampfgesättigten Raum wachsen stets nur in der Brutzwiebel vorhandene Anlagen aus. Einen weiteren Beweis bilden die zeitlichen Unterschiede in der Entwicklung der beiden Regenerattypen, auf die im nächsten Abschnitt zurückzukommen sein wird.

### *II. Versuche über Ort und Dauer der Brutzwiebelentwicklung*

Es soll über die Ergebnisse von Versuchen berichtet werden, die sich mit der Einwirkung der Schwerkraft auf den Bildungsort der Adventivknospen, sowie der regenerationsfördernden Wirkung von $\beta$-Indolylessigsäure als Wuchsstoff, Zwischenprodukten des intermediären Stoffwechsels und von Gewebepreßsaft befaßten. Außerdem wurde versucht, durch Änderung des Tagesrhythmus Einfluß auf die Brutzwiebelbildung an der intakten Pflanze zu nehmen. Daneben wurde die Regenerationsfähigkeit von isolierten Blattabschnitten geprüft und der Versuch gemacht, durch eine entsprechende Behandlung mit IES eine Umstimmung der Polarität hervorzurufen.

**1. Methodik.** Vorversuche haben gezeigt, daß in der Längsrichtung geführte Verletzungen in der Regel keine Knospenbildung einleiten. Ebensowenig Erfolg hat das Durchstechen der Blattfläche mit einer Nadel und die Verwundung durch oberflächliche Schnitte, die lediglich eine Epidermis durchtrennen. Über die Ausnahmefälle, in denen Brutzwiebeln entstanden sind, ohne daß eine Verletzung zu erkennen war, ist bereits im vorhergehenden Abschnitt berichtet worden.

Die Versuchsblätter erhielten ausschließlich Querwunden. Diese bestanden entweder aus 1—2 cm langen Schnitten, die sämtliche Zellschichten der Lamina durchtrennten, oder aus Brüchen. Diese zerrissen nur eine Epidermis und einen Teil des Mesophylls einschließlich der Leitbündel, das aber in der ganzen Breite der Blattfläche. Die Blätter wurden mit einem oder mit mehreren hintereinanderliegenden Schnitten bzw. Brüchen versehen. Zur Prüfung des Schwerkrafteinflusses auf die Seite der Brutzwiebelbildung wurden sie zum Teil um 90° oder um 180° gewendet und in der veränderten Lage mit Hilfe von Glashaken festgehalten. Eine entsprechende Anzahl in Alter und Größe vergleichbarer, mit Verletzungen versehener Blätter in Normallage bildeten die Kontrolle. Die Pflanzen wurden über längere Zeiträume auf ihre Reaktion beobachtet.

Auf die gleiche Weise vorbereitete Versuchsblätter erhielten zusätzlich eine Behandlung mit Wuchsstoffpaste (s. RUGE 1951, S. 150)[1], die Kontrollen mit einer

[1] Zur Lösung der kristallinen $\beta$-Indolylessigsäure wurde nicht Kalilauge, sondern Natriumbicarbonat benutzt.

entsprechenden Wasserpaste. Die Pasten wurden einseitig in der unmittelbaren Umgebung der Wunden auf die Epidermis aufgetragen. Die Erneuerung des Aufstriches erfolgte in regelmäßigen Abständen[1] über längere Zeiträume.

Andere Versuche mit Blättern, die an der Pflanze verletzt wurden, setzte ich mit Hilfe von Zusatzbeleuchtung unterschiedlichen Tageslängen aus. Die Belichtungsdauer betrug im Kurztag acht, im Langtag vierzehn Stunden.

Ebenfalls zusätzliches Licht erhielten invers aufgehängte Pflanzen. Die freie Erdfläche der Töpfe bekam einen Gipsüberzug; die Bewässerung der Pflanzen erfolgte durch die Abzugslöcher in den Topfböden. Die Topfränder lagen auf zwei an Drähten frei aufgehängten Leisten, die durch Drahtklammern am Verrutschen gehindert wurden. Die Beleuchtungsanlage[2] befand sich entweder über oder unter den Pflanzen im Abstand von 50 cm. Der Versuch wurde mit zehn Pflanzen je Anlage durchgeführt, die Blätter trugen ebenfalls Querschnitte oder Brüche.

Vergleichsweise wurden in Stimulationsversuchen verdünnte Lösungen von Zwischenprodukten des intermediären Stoffwechsels, wie Äthylalkohol, Aceton, Acetaldehyd und Brenztraubensäure in das Blattgewebe injiziert. Es kamen 0,001-, 0,01- und 0,1%ige Lösungen zur Verwendung. Ebenso wurden $\beta$-Indolylessigsäure und Gewebepreßsaft in die Blätter eingeführt. Zur Herstellung des Gewebesaftes zerrieb ich frische *Drimiopsis*blätter im Porzellanmörser und drückte den so entstandenen Brei durch ein grobes Tuch. Die ablaufende trübgrüne Flüssigkeit mußte sofort verbraucht werden, da sie sich schon nach wenigen Stunden zersetzte. Sie wurde zur Injektion unverdünnt verwendet. Injiziert wurde im Verlauf des Versuches einmal oder mehrmals in Abständen von einer Woche, etwa 0,1 $cm^3$ je Injektion, die immer in den gleichen Einstich erfolgte. Dieser Einstich bildete entweder die einzige Verletzung des Blattes, oder es war zusätzlich ein Schnitt vorhanden, der unterhalb oder oberhalb der eingebrachten Lösung lag.

Die gleichen Lösungen wurden in Stimulationsversuchen an Blattstecklingen benutzt. Zu diesem Zweck wurden kleinere isolierte Blätter mit Lösungen der Chemikalien in den genannten Konzentrationen mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe nfiltriert, bis sie glasig erschienen. Dann wurden sie mit durchbohrten Korkscheiben in 25 $cm^3$- oder 50 $cm^3$-Erlenmeyer-Kolben befestigt, die soweit mit Leitungswasser angefüllt wurden, daß die Blattstiele eben eintauchten. Als Kontrollen dienten mit destilliertem oder mit Leitungswasser infiltrierte Blätter. Auch verdünnter Gewebepreßsaft wurde auf die gleiche Art in die isolierten Organe eingeführt. In einem Teil der Versuche mit $\beta$-Indolylessigsäure infiltrierte ich den Wuchsstoff nicht, sondern fügte ihn dem als Kulturflüssigkeit benutzten Wasser zu.

Um die Regenerationsfähigkeit verschiedener Laminaabschnitte zu prüfen, wurden Blätter je nach Größe ein- bis mehrmals quer zerschnitten und die Teile als Wasser- oder Sandstecklinge gezogen. Weiter wurden ganze, mit mehreren Querschnitten versehene Blätter in horizontaler oder vertikaler Stellung kultiviert.

Eine mögliche Umkehr der Polarität durch entsprechende IES-Behandlung sollte an Laminateilen geprüft werden, die entweder mit der apikalen Schnittfläche gesteckt oder horizontal aufgelegt wurden. Die Behandlung mit Wuchsstoffpaste erfolgte von der in die Luft ragenden Basis her oder an liegenden Stücken von beiden Enden.

---

[1] Die Behandlung mit frischer Wuchsstoffpaste erfolgte alle drei oder vier Tage vier bis acht Wochen lang. Alle vierzehn Tage wurde frische Paste hergestellt.

[2] Die Beleuchtungsanlage bestand aus zwei Rahmen mit je drei Osram-Leuchtstoffröhren HNI (40 W), zwei Leuchtstoffröhren HNT (40 W) und vier Glühbirnen zu je 40 W.

**2. Versuche an der intakten Pflanze.** Wie sich im Verlauf der Untersuchungen zeigte, folgt durchaus nicht auf jede Verletzung der assimilierenden Blattflächen eine Brutzwiebelbildung. Auf das Ausbleiben einer Reaktion nach zu geringfügigen Verletzungen wurde bereits hingewiesen. Ferner ist, wie Tabelle 2 zeigt, *eine deutliche Abhängigkeit der Regenerationsfähigkeit vom Alter bzw. von der Reife der Organe zu erkennen.*

Tabelle 2. *Häufigkeit der Brutzwiebelbildung an Blättern verschiedenen Alters*

Die Zahlen sind einem Versuch mit zehn etwa gleichgroßen Pflanzen entnommen, die an allen Blättern verletzt wurden. — Nr. 1 bedeutet das jüngste verletzte Blatt. Dauer des Versuches: 4 Monate.

| Nummer des Blattes (von innen) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Anzahl der Blätter mit Knospen | 0 | 0 | 3 | 6 | 4 | 0 | 1 |

Verletzt man sämtliche Blätter einer Pflanze, so bilden sich Knospen stets nur an denen mittleren Alters. Ganz junge, die noch wachsen oder gerade ausgewachsen sind, können an der Pflanze nicht zur Regeneration gebracht werden. An zu alten entstehen nur selten Brutzwiebeln. Hier endet der Neubildungsprozeß häufig mit stärkerer Callusentwicklung, während junge Blätter einfache Wundheilung aufweisen.

Das Alter der zuletzt entstandenen Blätter (die Angaben beziehen sich stets auf makroskopisch an der intakten Pflanze sichtbare Spreitenteile) kann sehr unterschiedlich sein. So zeigen Wachstumsmessungen,

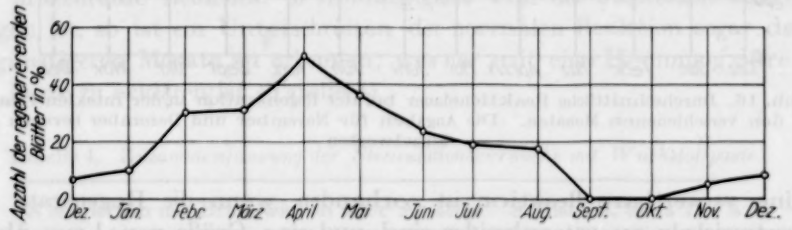


Abb. 15. Abhängigkeit der Brutzwiebelbildung an der intakten Pflanze von der Jahreszeit

die nicht im einzelnen aufgeführt werden sollen, daß das zweite Blatt noch wächst, wenn das jüngste schon eine Länge von zwei oder drei Zentimetern erreicht hat. Andererseits kann man Pflanzen finden, deren innerste Blätter längst ausgewachsen sind, ehe sich weitere zeigen. Die Schwankungen in der Wachstumsintensität sind individuell verschieden. Eine allgemeine Stockung kann aber durch extreme Trockenhaltung der Pflanzen hervorgerufen werden.

Außer dem Alter der Blätter *spielt die Jahreszeit für die Regeneration eine Rolle.* So fielen Versuche an der Pflanze in den Wintermonaten negativ aus. Die Kurve in Abb. 15 zeigt klar die Abhängigkeit der Reaktion von der Jahreszeit.

Höher als 50% liegende Versuchsresultate wurden nur in Einzelfällen erreicht. Zu erklären ist das außer mit den schon genannten Punkten, mit einer hohen Verlustrate durch Wundinfektionen, Abtrocknen und Abbrechen der Blätter. Das letzte behinderte besonders die Versuche mit gewendeten Blättern.

Die Zeitspanne von der Verwundung bis zur Reaktion dauert normal 50 bis 80 Tage, ausnahmsweise zwischen 30 und 40 Tagen, häufig auch länger als 80 Tage. Auch in diesem Falle läßt sich wieder eine Abhängigkeit von der Jahreszeit erkennen, wie aus der Abb. 16 zu entnehmen ist.

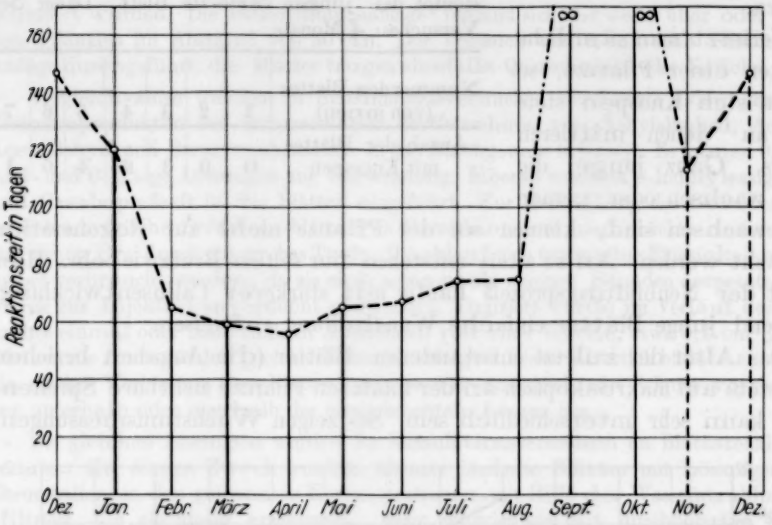


Abb. 16. Durchschnittliche Reaktionsdauer bei der Regeneration an der intakten Pflanze in den verschiedenen Monaten. Die Angaben für November und Dezember beruhen auf Einzelwerten

Eine verwertbare Reaktion ist vorhanden, wenn die Regenerate als Brutzwiebeln zu unterscheiden sind und eine Größe von 1 mm überschritten haben.

In den Monaten September bis Dezember angesetzte Versuche brachten in der Regel keine Adventivknospenbildung. Die in Abb. 16 angegebenen Zahlen für November und Dezember beruhen auf Einzelergebnissen und sind daher besonders gekennzeichnet. Auch in anderen Monaten sind Versuche ohne Brutzwiebeln geblieben. Doch handelt es sich dabei um Ausnahmen, die durch ungünstige Pflanzenwahl bedingt sind.

Um die Versuchsdauer abzukürzen, wurde versucht, die Brutzwiebelentwicklung mit Hilfe einer Wuchsstoffpaste zu beschleunigen. Diese wurde aus einer 0,5%igen $\beta$-Indolylessigsäurelösung hergestellt und die mit Schnitten versehenen Blätter damit, wie S. 598 beschrieben worden ist, behandelt. Die in Tabelle 3a und b zusammengefaßten Ergebnisse

Tabelle 3. *Stimulationsversuche mit Wuchsstoffpaste*

| Behandlungsort | Brutzwiebeln | | Ansätze[1] | | Callus | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Oberseite | Unterseite | Oberseite | Unterseite | Oberseite | Unterseite |
| a) Blätter in Normallage (9 Versuchsreihen, 61 Pflanzen) | | | | | | |
| Oberseite . . . | — | 3 | — | 1 | — | 10 |
| Unterseite . . | 2 | — | — | — | — | — |
| b) Blätter um 180° gewendet (3 Versuchsreihen, 9 Pflanzen) | | | | | | |
| Oberseite . . . | — | — | — | — | — | — |
| Unterseite . . | 1 | — | 1 | — | 4 | — |

[1] Als Ansätze werden Bildungen bezeichnet, die einen Durchmesser bis zu 1 mm haben.

erstrecken sich auf 12 Versuche mit insgesamt 70 Pflanzen, die in der Zeit von Juni 1953 bis August 1954 durchgeführt worden sind. Dabei ist an jeder Pflanze das dritte und vierte Blatt (von innen) behandelt worden. In allen Fällen bildete das ältere Blatt die mit Wasserpaste bestrichene Kontrolle.

Die äußerst schwache Reaktion läßt erkennen, daß von einer Stimulation nicht die Rede sein kann. Die Kontrollblätter sind in der Tabelle nicht enthalten, da in den drei Fällen, in denen überhaupt eine Knopsenbildung auftrat, diese mit der des IES-behandelten Blattes übereinstimmte. Vergleicht man das Ergebnis mit der Kurve Abb. 15, in der die prozentuale Reaktion in Abhängigkeit von der Jahreszeit aufgetragen ist, so ist ein Unterschreiten der normalen Reaktion sogar der ungünstigeren Monate zu erkennen, was nur mit einer Hemmung durch die Paste zu erklären ist (Tabelle 4).

Tabelle 4. *Zusammenfassung der Stimulationsversuche mit Wuchstoffpaste*

| | | |
|---|---|---|
| Es reagierten mit Brutzwiebeln oder Ansätzen | | 8 Pflanzen, etwa 11,4% |
| Es reagierten mit Callusbildung | | 14 Pflanzen, etwa 20,0% |
| | davon im Sommer | 10 Pflanzen, etwa 14,3% |
| Es reagierten | nicht | 32 Pflanzen, etwa 45,8% |
| | davon im Sommer | 26 Pflanzen, etwa 37,2% |
| | Verlust durch Faulen | 16 Pflanzen, etwa 22,8% |
| | Im Versuch | 70 Pflanzen =100% |

Besonders die große Zahl der Pflanzen, die auch im Sommer nicht reagierten, ist sicher auf eine derartige Wirkung zurückzuführen. Vermutlich ist es das Verkleben, das hemmend wirkt. So erfolgte auch jegliche Reaktion auf der der Behandlung gegenüberliegenden Seite. Auf eine Hemmung weist auch der hohe Verlust durch Ausfaulen der

Schnittränder. — Für die Untersuchung einer Schwerkraftwirkung konnten diese Versuche nicht verwendet werden.

Andere Stimulationsversuche befaßten sich mit der Wirkung verdünnter Lösungen von Äthylalkohol, Aceton, Brenztraubensäure und Acetaldehyd. Diese sind von KAKESITA (1928, 1930) benutzt worden, um die Blattknospen von *Bryophyllum calycinum* an der Pflanze zum Austreiben zu bringen. Außerdem kamen IES-Lösung und Gewebepreßsaft zur Verwendung. Letzterer soll nach REICHE (1924) Zellteilungen induzieren können.

Sämtliche Versuche, mit Hilfe der Injektion verschiedener Konzentrationen der genannten Lösungen eine Regeneration einzuleiten, sind negativ verlaufen. Es traten in keinem Fall Brutzwiebeln auf. Dabei war es gleich, ob die Injektion im Versuchsverlauf nur einmal erfolgte oder in Abständen in den gleichen Einstich wiederholt wurde, ob der Ansatz im Sommer oder im Winter lag. Die Erfolge unterschieden sich nicht von den Kontrollen, die nur Wassergaben erhalten hatten.

In der Regel konnte eine einfache Verheilung des Einstiches festgestellt werden, d. h., in der unmittelbaren Umgebung der verletzten Zellen sind ein bis zwei Teilungen erfolgt (pro Zelle). In wenigen Fällen entstanden nach längerer Zeit (drei Monate) äußerlich sichtbare Verdickungen, die sich genau auf das Gebiet erstreckten, in das vorher Versuchsflüssigkeit eingedrungen war. Handschnitte solcher Blatteile zeigten in keinem Falle Epidermisteilungen, abgesehen von der verheilten Einstichstelle. Eine Zellvermehrung war im Mesophyll zu erkennen, besonders in der subepidermalen Schicht. In einem Blatt war auch das Leitbündelparenchym betroffen, doch handelte es sich um eine Verletzung durch die Nadel.

Keines dieser Ergebnisse, auch wenn sie das normale Maß einer Wundheilung überschreiten, kann auf die stimulierende Wirkung der Chemikalien zurückgeführt werden. Es läßt sich alles nur durch mechanische Einwirkungen erklären, hervorgerufen durch die eingepreßte Flüssigkeit, die den Zellverband auch außerhalb der Stichstelle schädigte. Infolge der recht großen Intercellularen traten derartige Fälle selten ein. Da den genannten Versuchen die Anregung zu stärkerer Epidermisteilung fehlte, war eine Regeneration von Knospen nicht zu erwarten.

Gewebepreßsaft-Injektionen verhielten sich nicht anders. Die von REICHE beobachteten Rückstände in den Intercellularen wurden allerdings nicht gefunden.

Die oben (S. 599) dargestellten jahreszeitlichen Schwankungen in der Brutzwiebelentwicklung ließen die Möglichkeit einer Wirkung der unterschiedlichen Tageslängen zu, wie sie für *Bryophyllum* festgestellt worden ist (GOETZ 1953, KRÖNER 1955). Die für derartige Versuche vorgesehenen

Pflanzen wurden der veränderten Tagesrhythmik bereits 14 Tage vor dem eigentlichen Versuchsbeginn ausgesetzt. In den Wintermonaten erhielten beide Versuchsgruppen Zusatzbeleuchtung. Es wurden an jeder Pflanze mehrere Blätter verletzt und zwar Blatt 3 und 4, dazu kam an größeren Pflanzen Blatt 5. Vergleicht man Winter- und Sommer-

Tabelle 5. *Ort der Brutzwiebelbildung an fast horizontalen Blattabschnitten*

| | Datum der Zählung | |
|---|---|---|
| | 22. 3. 55 | 28. 3. 56 |
| Zahl der verwundeten Blätter . | 150 | 217 |
| Zahl der Blätter mit Brutzwiebeln | 32 | 46 |
| davon auf der Oberseite . . . | 15 | 16 |
| davon auf der Unterseite . . . | 12 | 23 |
| davon auf beiden Seiten . . . | 5 | 7 |

versuche, so läßt sich ein Einfluß der Tageslänge aus dem Ergebnis nicht erkennen. Die winterliche Hemmung ließ sich durch die zusätzliche Beleuchtung nicht aufheben. Trotz einer mehr als doppelt so langen Dauer ist der Winterversuch fast negativ ausgefallen. Es ist lediglich eine stärkere Callusbildung zu verzeichnen. Nach einer dem Sommerversuch entsprechenden Zeit war die Reaktion völlig negativ.

Alle Versuche an der ganzen Pflanze, ganz gleich welcher Art, wurden auf die Möglichkeit einer Schwerkraftwirkung untersucht und ausgewertet. Bei einer Beurteilung von Schwerkrafteinflüssen ist der Ort der Regeneration an Blättern, die ganz oder teilweise eine angenähert horizontale Stellung haben, ausschlaggebend; denn nur in diesem Falle ist die Einwirkung auf Ventral- und Dorsalseite wirklich entgegengesetzt. Die Angaben in Tabelle 5 beziehen sich nur auf derartige Verletzungen an beinahe waagerechten Blattabschnitten.

Tabelle 6. *Ort der Brutzwiebelbildung an fast horizontalen Blattabschnitten (Schwerkraftversuche)*

| | |
|---|---|
| Zahl der verwundeten Blätter | 196 |
| davon mit Brutzwiebeln . . | 69 |
| davon mit Verdickungen . . | 20 |
| davon auf der Oberseite . . | 34 |
| davon auf der Unterseite . . | 33 |
| davon auf beiden Seiten . . | 2 |

Während die oben genannten Zahlen für Blätter gelten, die außerhalb der eigentlichen Versuche verletzt wurden, stellt die Zusammenfassung in Tabelle 6 die Ergebnisse von Einzelversuchen dar, die zu verschiedenen Zeiten liefen.

Die Zahl der Blätter mit Brutzwiebeln im Verhältnis zur Gesamtzahl der angebrochenen Blätter ist in den Einzelversuchen naturgemäß höher, da es sich hierbei stets um Pflanzen und Blätter handelt, bei denen eine Reaktion zu erwarten war.

In den Tabellen sind keine Versuche mit gewendeten Blättern enthalten, da diese größtenteils negativ verliefen. Es reagierten nur drei Pflanzen; diese brachten Brutzwiebeln auf der nach unten zeigenden morphologischen Blattoberseite. Das Ergebnis beruht einmal auf einer herabgesetzten Reaktionsbereitschaft dieser Blätter, zu einem erheblichen Teil aber auf Verlusten durch Abbrechen der Organe. Aus diesem Grunde wurden 20 Pflanzen über einen längeren Zeitraum in inverser Stellung kultiviert. Der Versuch, der von November 1954 bis Juli 1955 lief, war in zwei Gruppen aufgeteilt. Die aus zehn Pflanzen bestehende erste Abteilung erhielt von Anfang an eine zusätzliche Beleuchtung von oben, während Abteilung II zunächst auf Tageslicht angewiesen war. Nach 14 Tagen Gewöhnungszeit erhielten alle älteren Blätter — bis zum dritten Blatt von innen — Brüche. Die Verletzungen wurden von Zeit zu Zeit an den nachgewachsenen Blättern ergänzt.

Tabelle 7. *Ort der Brutzwiebelbildung an invers kultivierten Pflanzen*

| | Abt. I (Beleuchtung von oben) | Abt. II (Beleuchtung von unten) |
|---|---|---|
| Zahl der Blätter mit Brutzwiebeln | 14 | 13 |
| davon auf der morphologischen Oberseite | 12 | 9 |
| davon auf der morphologischen Unterseite | 2 | 4 |

Die Pflanzen beider Gruppen reagierten zunächst mit Blattwachstum in Richtung auf das Licht. Es beteiligten sich daran auch ausgewachsene Blätter, soweit sie nicht zu alt waren. Die Wachstumszone lag in den basalen Stielteilen. Je nach der Stellung zum Licht und vorhandenem Raum konnte die Krümmung unterschiedlich verlaufen. Es waren zwei Hauptrichtungen zu unterscheiden: entweder es erfolgte eine einfache Aufbiegung durch verstärkte Streckung der Ventralseite, oder durch einseitiges Wachstum der Randpartien kam eine seitliche Drehung zustande. Endergebnis war in jedem Fall eine Zuwendung der Ventralseite zur Lichtquelle.

Im Verlauf des Februar 1955 traten an drei Blättern (zwei Pflanzen) der beleuchteten Abteilung Brutzwiebeln auf. Es entstanden alle auf der morphologischen Blattoberseite der Blätter, die durch die Krümmung eine mehr oder weniger schräg nach oben weisende Lage einnahmen.

Blattdrehung und der Ort der Brutzwiebelbildung konnten zwei Ursachen haben: Schwerkraft oder Lichtrichtung. Um den möglichen Einfluß des Lichtes beobachten zu können, erhielt Abteilung II ebenfalls Zusatzbeleuchtung, aber von unten. Der Einfluß des von oben und der Seite einfallenden Tageslichtes wurde durch Verdunklung mit einem Dach aus schwarzem Papier verringert. Bei dieser Anordnung behielten die Blätter ihre Normallage bei. Eine Ausnahme bildeten lediglich die

an den seitlichen Enden hängenden Töpfe, bei denen der seitliche Lichteinfall nicht vollständig abgeschirmt werden konnte.

Eine stärkere Brutzwiebelbildung setzte in beiden Versuchsgruppen von April 1955 an ein. Das zahlenmäßige Ergebnis ist in Tabelle 7 wiedergegeben.

Es fällt hier die offensichtliche Bevorzugung der morphologischen Blattoberseite auf, die schon in den wenigen Ergebnissen an gewendeten Blättern hervortrat. Da die Ventralseiten der Hauptmenge des einfallenden Lichtes entsprechend verschiedene Stellungen einnehmen, die auf diesen Flächen gebildeten Knospen aber in beiden Fällen überwiegen, kann nicht eine Schwerkraftwirkung den Entstehungsort bestimmen. Die gleiche Deutung erlauben auch die Zahlen der Tabellen 5 und 6. Bei Beobachtung eines genügend umfangreichen Materials halten sich bei normal gewachsenen Pflanzen die auf Ober- und Unterseite entwickelten Brutzwiebeln etwa die Waage. Außerdem treten immer wieder Fälle auf, in denen an einem Schnitt Zwiebeln zugleich auf beiden Seiten erscheinen, auch wenn der betreffende Blattabschnitt eine horizontale Stellung einnimmt.

Tabelle 8. *Brutzwiebelbildung an invers kultivierten Pflanzen im Verhältnis zur Lichtrichtung*

| Brutzwiebelbildung | Lichtrichtung | |
|---|---|---|
| | von oben | von unten |
| Auf der dem Licht zugewendeten Seite | 7 | 8 |
| Indifferent[1] | 4 | 3 |
| Auf der dem Licht abgewendeten Seite | 3 | 2 |

[1] Indifferent sind Brutzwiebeln, die sich an Blättern von Randpflanzen befinden, deren Blätter senkrecht zur künstlichen Lichtquelle stehen.

Stellt man das Ergebnis des Versuches mit invers kultivierten Pflanzen nach dem Lichteinfall zusammen (Tabelle 8), so überwiegen die Brutzwiebeln, die auf der dem Licht zugewendeten Seite entstanden sind.

Betrachtet man dagegen die Zahlen der Tabellen 5 und 6, die ebenfalls an einheitlichem Material gewonnen sind, so ist eine Lichteinwirkung schwer herauszulesen. Nimmt man dennoch einen derartigen Einfluß an, so ist das Ergebnis nur mit einer Überdeckung der Einwirkung der von oben einfallenden Strahlen durch zusätzliche seitliche Belichtung zu erklären. Die normal im Gewächshaus kultivierten Pflanzen erhielten außer von oben im wesentlichen von zwei Seiten Licht. Auch die Inverskulturen der Abteilung I, die gegen Lichteinwirkung von unten nicht abgeschirmt waren, zeigen ein weniger eindeutiges Ergebnis (s. Tabelle 8). Doch ist es wahrscheinlich, daß der jeweilige Entstehungsort der Brutzwiebeln durch eine Reihe von Faktoren bestimmt wird, die je nach Versuchsbedingungen und Standort der Pflanze in verschiedener Stärke zur Auswirkung kommen und auf diese Weise die unterschiedlichen Ergebnisse bedingen.

**3. Versuche an Blattstecklingen.** Da die Regeneration von Brutzwiebeln an der Basis abgetrennter Blätter oder Blattabschnitte schneller und regelmäßiger einsetzte als im Zusammenhang mit der Pflanze, wurde die Kultur isolierter Organe benutzt, um Material für die anatomischen Untersuchungen zu gewinnen. Gleichzeitig war es möglich, an der intakten Pflanze erhaltene Ergebnisse in ähnlichen Behandlungen zu vergleichen. Es kamen die schon im vorhergehenden Abschnitt erwähnten Chemikalien zur Anwendung. Außerdem ließen sich die Regenerationsfähigkeit der verschiedenen Blattabschnitte und zeitliche Unterschiede im Auftreten der Neubildungen an diesen untersuchen.

Tabelle 9. *Reaktionsdauer in Infiltrationsversuchen an Blattstecklingen*

| | Infiltrierte Flüssigkeit | | |
|---|---|---|---|
| | IES (0,01- und 0,001% ig) | Gewebepreßsaft | Wasser |
| Regenerationsdauer in Tagen | 49,9 | 50,3 | 55,3 |
| Anzahl der Stecklinge | 76 | 49 | 47 |

Die zum Vergleich mit den beschriebenen Injektions-Versuchen durchgeführten Infiltrationen verdünnter Lösungen von Äthylalkohol, Aceton, Brenztraubensäure und Acetaldehyd blieben auch hier ohne Erfolg. Lediglich die $\beta$-Indolylessigsäure und Gewebepreßsaft ließen Unterschiede im Vergleich zur Wasserbehandlung erkennen.

Allgemein ist zu der Einbringung von Stoffen in das Blattgewebe mit Hilfe der Infiltration zu sagen, daß in den hier durchgeführten Versuchen die Organe dadurch geschädigt wurden. In den Einzelversuchen sind bis zu 50% der Stecklinge durch teilweises oder vollständiges Abfaulen der Stiele ausgefallen, während unbehandelte Blätter nur geringe Verluste zeigten. Prozentual am stärksten war der Ausfall bei Infiltration von reinem Wasser.

Fault nur der untere Abschnitt des Blattstieles ab, so findet in der Regel eine Regeneration statt, aber mit merklicher Verzögerung. Die Ursache für das Absterben und die Infektion der Stielbasen ist wahrscheinlich in einer mechanischen Schädigung zu suchen. Doch lassen sich auf diese Weise nur die Tatsache als solche, nicht aber die Unterschiede zwischen den einzelnen infiltrierten Lösungen erklären. Man könnte sie mit einer Wuchsstoffwirkung deuten, doch es verschwinden alle Differenzen, sobald die Blätter nicht mit den Flüssigkeiten infiltriert werden, sondern Wasser bzw. IES-Lösung als Substrat erhalten. Gewebepreßsaft in dieser Weise zu verwenden ist nicht möglich, da er bereits nach wenigen Stunden verdirbt. — Die Anzahl der geschädigten Organe schwankt außerdem erheblich in den einzelnen Versuchsansätzen. Doch lassen sich keine Beziehungen zur Jahreszeit oder anderen Umwelt-

einflüssen erkennen, die die unterschiedliche Empfindlichkeit der Stecklinge hervorrufen könnten.

Läßt man in den Versuchen alle Stecklinge fort, deren Regeneration durch Anfaulen der Basis verzögert war, so wird außerdem eine zeitliche Förderung durch IES und Gewebepreßsaft erkennbar (Tabelle 9).

In der Tabelle 9 sind nur die Zahlen erfaßt, die die Brutzwiebelbildung an sich betreffen. Doch deuten auch die nicht einbezogenen Größenunterschiede zwischen den Regeneraten in die gleiche Richtung.

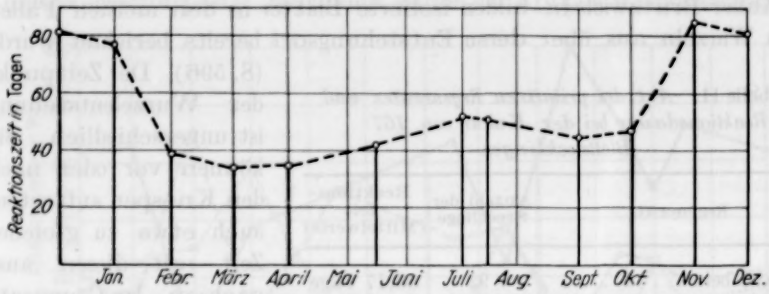


Abb. 17. Durchschnittliche Reaktionsdauer bei der Regeneration von Blattstecklingen in den verschiedenen Jahreszeiten

Stecklingsanzuchten ohne Infiltration zeigen ebenfalls eine Förderung durch IES. Sie läßt sich am ehesten durch die Anzahl der Blätter ausdrücken, die nach einer bestimmten Zeit Adventivzwiebeln entwickelt haben (Tabelle 10).

Die zeitliche Förderung durch IES-Zugabe wird in den Versuchen nicht von Blattsteckling zu Blattsteckling erkennbar, da die individuellen Unterschiede zwischen den Blättern zu groß sind. Die Regenerationsdauer, d. h. die Zeit, die von der Lostrennung des Blattes von der Mutterpflanze bis zur Differenzierung eben unterscheidbarer Zwiebeln vergeht, hängt vom Zustand des einzelnen Stecklings ab. Sie kann zwischen den Blättern eines Versuches erheblich differieren, auch wenn man von den Verzögerungen absieht, die durch Anfaulen der Basis hervorgerufen werden.

Tabelle 10. *Förderung der Brutzwiebelbildung durch IES an nichtinfiltrierten Blattstecklingen*

| Reaktionszeit in Tagen | Reaktion in % | |
|---|---|---|
| | IES | Wasser |
| 28 | 25 | 12,5 |
| 38 | 75 | 50 |

Neben starken individuellen Schwankungen sind aber auch hier von der Jahreszeit abhängige Differenzen zu erkennen. Die Kurve in Abb. 17 zeigt eine Verlängerung der Regenerationszeit für die Monate November, Dezember und Januar, die allerdings gegenüber der für die ganze Pflanze erhaltenen abgeschwächt erscheint.

Es kommt nicht vor, daß isolierte Blätter gar keine Brutzwiebeln an der Basis entwickeln, es sei denn, das Blatt geht durch Fäulnis schnell

zugrunde. Bei genügend langer Kulturdauer tritt überall eine Reaktion ein. Ein Rhythmus bleibt aber, wenn auch in abgeschwächter Form, erkennbar.

Auffällig war eine starke Callusbildung an nicht infiltrierten Blattstecklingen eines Versuches im Winter 1954/55. Die in reinem Leitungswasser kultivierten Blätter waren davon in gleichem Maße betroffen wie die, die 10 mg/l IES erhalten hatten. Eine Wiederholung des Versuches im Winter 1955/56 brachte nicht das gleiche Ergebnis. Es kam ebenfalls zu Callusentwicklung, die aber nicht das normale Maß überschritt, das auch in anderen Versuchen beobachtet werden konnte.

Außer Brutzwiebeln bilden isolierte Blätter in den meisten Fällen auch Wurzeln aus, über deren Entstehungsort bereits berichtet wurde (S. 596). Der Zeitpunkt der Wurzelentstehung ist unterschiedlich. Sie können vor oder nach den Knospen auftreten, auch etwa zu gleicher Zeit mit diesen auswachsen. Im Gegensatz zu den Brutzwiebeln können sie auch ganz ausbleiben. Dieser Fall tritt ein, sobald die Knospenentwicklung schneller einsetzt als die der Wurzeln und diese an den neugebildeten Zwiebeln entstehen. Wie aus Tabelle 11 hervorgeht, setzt die Differenzierung von Wurzeln im allgemeinen schneller ein als die der Brutsprosse. Es kommt aber vor, daß in seltenen Fällen — 9 von 92 — nach der Sproßregeneration noch Wurzeln aus dem Mutterblatt auswachsen. Recht häufig bilden sich dagegen Knospen und Wurzeln zu gleicher Zeit. Die mittlere Reaktionszeit liegt, wie zu erwarten, zwischen den beiden andern, jedoch näher bei der Wurzelbildung.

Tabelle 11. *Art des primären Regenerates und Reaktionsdauer bei der Kultur von 167 Blattstecklingen*

| Regenerat | Anzahl der Stecklinge | Reaktionszeit (Mittelwerte) |
|---|---|---|
| Brutzwiebeln . . . . . | 92 | 53,17 Tage |
| Wurzeln . . . . . | 35 | 38,86 Tage |
| Brutzwiebeln und Wurzeln | 40 | 43,70 Tage |

Primäre Wurzelbildung, sowie gleichzeitige Differenzierung beider Regenerattypen überwiegen im Frühjahr, also während der Jahreszeit mit der kürzesten Reaktionszeit. In den Herbst- und Wintermonaten findet man in der Regel zuerst Brutzwiebeln. Zur gleichen Zeit kann eine stärkere Callusbildung der eigentlichen Regeneration vorausgehen. Für die Sommermonate läßt sich kein einheitliches Ergebnis gewinnen (Abb. 18).

Die Versuche mit Spreitenabschnitten zeigen, daß jeder Teil der *Drimiopsis*-Lamina zur Regeneration fähig ist. Die Brutzwiebel- und Wurzeldifferenzierung ist nicht auf den basalen Blattabschnitt beschränkt. Voraussetzung ist allerdings, daß die Blattstücke nicht zu klein sind und nicht zu viel Wundfläche aufweisen. Blätter, die außer der Querteilung in 3—4 cm lange Abschnitte zusätzlich in der Längsrichtung halbiert werden, reagieren nur in Ausnahmefällen und dann sehr verzögert.

Die Blattabschnitte verhalten sich im wesentlichen wie Stecklinge aus ganzen Blättern. Auch hier differenzieren sich Wurzeln im allgemeinen schneller als Sprosse. Die jahreszeitliche Abhängigkeit der Primärregeneration ist nicht untersucht worden. Unterschiede in der Reaktionsdauer ließen sich zwischen den einzelnen Spreitenteilen nur an Stecklingen nachweisen, die in vertikaler Stellung kultiviert wurden (Tabelle 12).

Diese Versuche zeigten erstmalig eine Förderung durch Behandlung mit Wuchsstoffpaste. Behandelt wurde der apikale Wundrand oder ein

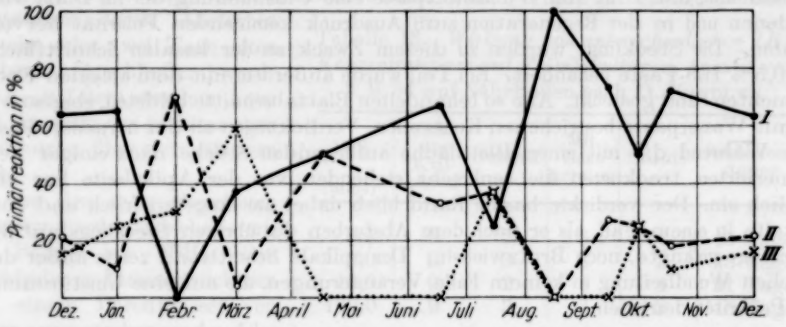


Abb. 18. Jahreszeitlicher Verlauf der Regeneration von Wurzeln und Brutzwiebeln an Blattstecklingen. Die Kurven beziehen sich auf: *I* = Brutzwiebeln, *II* = Wurzeln, *III* = Wurzeln und Brutzwiebeln

in der Stecklingsfläche angebrachter Schnitt, nie die basale Wunde. Die Behandlung erfolgte wie üblich (vgl. S. 598).

Es fällt auf, daß die Regeneration der Stiele gegenüber der der unteren Blattabschnitte verzögert ist. Das läßt sich wahrscheinlich auf die geringere zur Verfügung stehende Assimilationsfläche zurückführen, auf die die Stecklinge zunächst allein angewiesen sind, da in den Stielen wie in der Spreite keine Speicherstärke vorhanden ist.

Tabelle 12. *Reaktionszeit verschiedener Blattabschnitte mit und ohne Behandlung durch Wuchsstoffpaste*

| Spreitenabschnitt | Reaktionszeit (Mittelwert) | |
|---|---|---|
| | mit 0,5 % IFS-Paste behandelt | Kontrolle |
| Stiele . . . . . | 56,63 Tage | 82,83 Tage |
| Untere Blattabschnitte | 43,50 Tage | 44,00 Tage |
| Mittlere Blattabschnitte | 75,63 Tage | 80,75 Tage |
| Blattspitzen . . . . . | 76,50 Tage | 87,00 Tage |

Legt man Spreitenabschnitte horizontal auf feuchten Sand, so verschwinden die Unterschiede in der Reaktionszeit zwischen den Teilen. Unterschiede finden sich hier nur, wenn man die Blattabschnitte zusätzlich mit Schnitten versieht. Der basale Wundrand ist dann deutlich gegenüber den Einschnitten gefördert. — Im Gegensatz zu den Wunden an horizontal kultivierten Blättern,

treten an Einschnitten in senkrecht gesteckten Spreiten nur selten und nach sehr langer Zeit Brutzwiebeln auf.

Der bevorzugte Ort der Brutzwiebelbildung ist an Blatteilen, wie an ganzen Blättern, die morphologische Blattoberseite, ganz gleich, ob sie in horizontaler oder vertikaler Stellung kultiviert werden. Das Bild ändert sich auch nicht, wenn man Abschnitte der gleichen Spreite in verschiedener Lage, einmal die Ventral-, einmal die Dorsalseite dem Boden aufliegend, kultiviert.

Es ist versucht worden, an liegenden und senkrechten gesteckten Lamina- und Stielstücken, mit Hilfe von Wuchsstoffpaste eine Umstimmung der im Blatt vorhandenen und in der Regeneration zum Ausdruck kommenden Polarität hervorzurufen. Die Stecklinge wurden zu diesem Zweck an der basalen Schnittfläche mit 0,5% IES-Paste behandelt. Ein Teil wurde außerdem mit dem apikalen Ende in feuchten Sand gesteckt. Alle so behandelten Blattabschnitte bildeten, ebenso wie die mit Wasserpaste bestrichenen Kontrollen, Verdickungen an der normalen Basis aus. Während die mit einer Blattfläche aufliegenden Stücke nach einiger Zeit regenerierten, trockneten die senkrecht stehenden von der Apikalseite her allmählich ein. Der verdickte basale Rand blieb dabei am längsten frisch und entwickelte in einem Fall, als er nach dem Absterben des übrigen Stecklings auf die Unterlage gelangte, noch Brutzwiebeln. Der apikale Schnittrand zeigte außer der üblichen Wundheilung in keinem Falle Veränderungen, die auf eine Umstimmung der Polarität deuteten.

### *III. Sterile Kultur kleiner Spreitenstückchen*

Wie schon erwähnt, dienten diese Kulturen zunächst nur der Heranzucht von Material für die entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen. Da sich neben der eigentlichen Regeneration auch ein Wachstum des übrigen Blattgewebes, eine vor allem vom Wundrand ausgehende Callusbildung, einstellte, wurde mit Erfolg eine Weiterkultivierung der Fragmente nach der Art von Gewebekulturen versucht. Die hier mitgeteilten Ergebnisse können nur als vorläufig gelten, da der größte Teil der Kulturen nach verhältnismäßig kurzer Zeit fixiert wurde.

**1. Methodik.** Die Vorbereitung und Anlegung der Kulturen folgte im wesentlichen den Angaben von GAUTHERET (1942) und KANDLER (1950).

*a) Kulturgefäße.* Es kamen gewöhnliche Reagensgläser und Erlenmeyer-Kolben von 25 cm³ Inhalt zur Verwendung. Die Reinigung erfolgte in Bichromat-Schwefelsäure mit nachfolgendem gründlichen Spülen in destilliertem Wasser. Die Gefäße wurden mit Zellstoffstopfen verschlossen.

*b) Nährböden.* Die benutzten Mineralsalzzusammenstellungen von KANDLER (1950), HELLER (1953) und SKOOG (1954) basieren alle auf der von WHITE seit 1932 für Tomatenwurzeln und später auch für Gewebekulturen verwendeten Nährlösung nach USPENSKI (1925) (vgl. WHITE 1943a, 1943b).

Alle Nährböden erhielten gleichmäßig 2% Glucose (Dextropur) und 1% Agar, der vor der Verwendung 10—14 Tage in fließendem Wasser ausgewaschen, anschließend mehrfach in destilliertem Wasser[1] nachgespült und getrocknet wurde.

[1] Es wurde in diesen Kulturen nur im Ionenabsorber gewonnenes oder glasdestilliertes Wasser benutzt.

An Wirkstoffen wurden β-Indolylessigsäure (0,1—10 mg/l des K-Salzes) und Biotin (0,1 mg/l) geboten. Beide Substanzen wurden vor der Sterilisation zugefügt, die im Autoklaven bei 110° C und Atü 1 erfolgte und 40 Minuten dauerte (vgl. GAUTHERET 1942, S. 19 u. 28).

*c) Vorbereitung der Blattstückchen.* Es kamen nur ausgewachsene, unverletzte Blätter zur Verwendung, die nach vorsichtigem Reinigen mit Wasser und Seife für 6—8 Stunden in einer Calciumhypochloritlösung sterilisiert wurden. Die Lösung bestand aus dem Filtrat einer 10 Minuten geschüttelten Chlorkalkaufschwemmung in Leitungswasser (60 g/l).

Wegen der langen Desinfektionszeit — kürzer dauernde Aufenthalte genügten nicht, da die Infektionen nach 2—3 Stunden noch 50% überstiegen — mußte sorgfältig jedes beschädigte Blatt aussortiert werden, um Verluste zu vermeiden. Diese entstanden durch Absterben der ein oder zwei Tage alten Kulturen. Anschließend wurde mit 6—8 Litern sterilem Aqua dest. gespült, das je Liter etwa 20 Minuten über den Blättern blieb.

Tabelle 13. *Wirkung von unterschiedlichen IES-Konzentrationen auf Primärkulturen.* Ansatz vom 3. 9. 54 auf Nährboden nach O. KANDLER

| IES (mg/l) | Zahl der Kulturen | Ausfall | Mit Regeneraten | Callus | Reaktionsdauer |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,1 | 9 | 2 | 3 | 4 | 45 Tage |
| 1,0 | 9 | 3 | 3 | 3 | 45 Tage |
| 10,0 | 9 | 2 | 3 | 4 | 31 Tage |
| 100,0 | 9 | 3 | 3 | 3 | 45 Tage |

Aus den so vorbereiteten Blättern wurden zwischen sterilem Papier mit Hilfe eines Korkbohrers Laminastückchen mit einem Durchmesser von 4 mm ausgestochen und auf das Nährsubstrat übertragen. Ansätze mit Teilchen kleineren Durchmessers (3 mm) gingen immer zugrunde. Die Kulturen stammten stets aus dem mittleren Teil der Spreite.

*d)* Bei der Installation des Impftisches und der Sterilisation der Pinzetten und Skalpelle verfuhr ich, wie es GAUTHERET (1942) für fleischige Organe angibt. Es wurde zusätzlich eine Glasplatte in 20 cm Höhe über dem Impftisch angebracht, um Ateminfektionen zu erschweren.

*e) Aufbewahrung der Kulturen.* Lichtkulturen kamen in einem gewöhnlichen Laboratoriumsraum ohne konstante Temperatur (20—26° C) im Tageslicht zur Aufstellung. Im Dunkeln wurden die Kulturen im Thermostaten bei 24° C gehalten.

*f)* Das Teilen und Übertragen von primären und älteren Kulturen auf frische Nährböden richtete sich wieder nach der GAUTHERETschen Methode. Regenerate wurden dabei sorgfältig entfernt.

Auf die gleiche Art konnten außer Blattstückchen von *Drimiopsis* auch solche von *Sanseviera trifasciata* var. *Laurentii* kultiviert werden. Gleiche Versuche mit *Begonia rex* scheiterten dagegen bisher, da lediglich Regeneration und keine Callusentwicklung auftrat.

**2. Ergebnisse.** Wie sich in allerjüngster Zeit gezeigt hat, *ist es möglich, auch Blattgewebe unter geeigneten Bedingungen zu kultivieren. Drimiopsis* benötigt zur Anregung eines entsprechenden Wachstums nur der Zugabe von β-Indolylessigsäure zum Nährboden der Primäransätze. Die verschiedenen benutzten Konzentrationen lassen keine Unterschiede in der Regeneration erkennen (Tabelle 13). Lediglich die Reaktionszeit ist in der Serie mit 10 mg/l IES um 14 Tage kürzer.

Diese Verkürzung muß als zufällig angesehen werden, da in Ansätzen mit einheitlicher IES-Konzentration die Reaktionsdauer oft um mehr als 14 Tage schwankte.

Primärkulturen ohne IES-Zugabe kamen nur in einem Falle zur Entwicklung. Es muß also offenbleiben, ob bei geeignetem Ausgangsmaterial auf jede Wuchsstoffzugabe verzichtet werden kann. Sekundärkulturen zeigten keine Unterschiede in der Entwicklung, wenn dem Nährmedium keine IES zugefügt worden war.

Blattstückchen, die zusätzlich zur IES Biotin erhalten, weisen ein gefördertes Wachstum auf. Ein Einfluß auf die Brutzwiebelbildung läßt sich jedoch nicht feststellen. Biotin allein fördert nicht; die so ernährten Kulturen unterscheiden sich kaum von der Kontrolle, doch ist die Lebensdauer etwas erhöht.

Für eindeutige Angaben über den Einfluß der genannten Stoffe ist die Anzahl der Kulturen, die über längere Zeiträume beobachtet wurden, zu klein. Die meisten Ansätze wurden fixiert, sobald die Regenerate sich in geeigneten Stadien für die anatomische Untersuchung befanden. Weitergeführt wurden nur Teile von zwei Serien, die im Herbst 1954 angesetzt worden sind. Diese sind bis heute[1] in Kultur und haben ihre Regenerationsfähigkeit bisher nicht verloren.

Zu einem indifferenten Ergebnis führte auch die Verwendung verschiedener Nährsalzzusammenstellungen für Primärkulturen. Die zwischen den Ansätzen auftretenden Unterschiede in der Entwicklung waren nicht größer als die zwischen den Blattstückchen eines Ansatzes. Da in der Regel schon die Anfangsstadien zur Untersuchung kamen, war die Beobachtungsdauer zu kurz, um zu einem abschließenden Ergebnis zu gelangen.

Von erheblich stärkerem Einfluß als die Zusammensetzung des Nährbodens ist für die Art der Entwicklung eines Blattstückchens seine Lage auf dem Substrat. Prinzipiell sind beide Epidermen zur Brutzwiebelbildung befähigt, wie sich an verwundeten Blättern zeigen läßt, die an der Pflanze verblieben sind. Doch ergibt sich in den Kulturen die gleiche Bevorzugung der morphologischen Oberseite, die auch an Blattstecklingen gefunden worden ist. Dementsprechend regenerieren am günstigsten solche Fragmente, die dem Nährboden mit der Dorsalepidermis aufliegen.

Normalerweise beginnt die Entwicklung eines in Kultur befindlichen Laminastückchens nach 2—5 Tagen mit Teilungen zu Wundverheilungen (über Ausnahmen ist bereits auf S. 586 berichtet worden). Die neu gebildeten Zellwände verlaufen durch alle Gewebe parallel zum Schnittrand, gewöhnlich in der äußersten unverletzten Zelle. Darauf geht die

[1] September 1957.

Teilungstätigkeit zunächst in der Hauptsache auf die Epidermen über, besonders auf die Oberepidermis. Dort werden nach 8—14 Tagen Teilungszentren erkennbar, die längs des Wundrandes am weitesten fortgeschritten sind. Die Entwicklung dieser Meristemkomplexe ist schon beschrieben worden (vgl. S. 590). Die dem Substrat aufliegende Unterepidermis teilt sich ebenfalls am Rande am stärksten, doch fehlen in der Regel ausgesprochene Zentren. Die Zellen erreichen auch nicht einen wirklich meristematischen Charakter. Meist gehen sie nach einiger Zeit zugrunde, und die darunterliegenden, inzwischen stark angeschwollenen Parenchymzellen treten an ihre Stelle. Das Gewebe ist locker, die Einzelzelle oft thyllenartig ausgewachsen und dient offensichtlich der Stoffaufnahme. In schnell wachsenden Kulturen kann die noch lebende Epidermis aufreißen, so daß die Parenchymzellen herausquellen.

Bei der Stoffaufnahme, die zunächst außer über die Schnittfläche über die Epidermiszellen verläuft, spielen sicher die Schließzellen der zahlreich vorhandenen Spaltöffnungen eine Rolle, deren Inhalt eine auffällige Umbildung erfährt. Die normalerweise stärkehaltigen Chloroplasten schwellen an und verlieren weitgehend ihre grüne Färbung. Ein Vergleich mit Spaltöffnungen der Unterepidermis eines normalen Blattes zeigt eine wesentlich schwächere Fluorescenz. — Die Behandlung von Oberflächenschnitten 10 Tage alter Kulturen mit Jod-Jodkalium-Lösung ergab, daß die schon sehr aufgetrieben wirkenden Schließzellen mit kugeligen Körpern angefüllt waren, die um einen blauvioletten Kern einen breiten, nur schwach graugelb angefärbten Hof besaßen. Es wiesen nie alle Spaltöffnungen diese Umbildungen auf, oft nur eine der beiden Schließzellen, während die andere ein normales Aussehen zeigte. — Diese Erscheinung ist nur für die dem Substrat aufliegende Epidermis gefunden worden. Die Stomata der nach oben gerichteten Seite lassen keine derartigen Veränderungen erkennen.

Die Chloroplasten des Mesophylls degenerieren gewöhnlich ebenfalls während der ersten vier Kulturwochen, doch ist der Verlauf ein anderer. Die Größe der Plastiden nimmt im allgemeinen zunächst etwas zu, und diese erscheinen dann nicht mehr homogen grün. Gleichzeitig wird die Färbung blasser, was auch in einer schwächeren Fluorescenz erkennbar wird. In späteren Stadien zeigen sie nur noch einen Bruchteil ihrer ursprünglichen Größe und sehr schwache Grünfärbung. Dieser Zustand kann auch direkt, ohne vorherige Aufblähung eintreten. Der Verfall des Chlorophylls kann bis zum Verschwinden der sichtbaren Grünfärbung fortschreiten, meist bleibt jedoch ein Schimmer erhalten. In jedem Falle läßt sich eine Fluorescenz nachweisen. Einen entsprechenden Verlauf kann man auch in normal alternden Blättern verfolgen.

Im Dunkeln gehaltene Kulturen verhalten sich im wesentlichen wie belichtete, lediglich das Blasserwerden der Plastiden geht etwas schneller vor sich.

Etwa 50% der kultivierten Blattstückchen bilden keine Brutzwiebeln, sondern gehen zu callusartigem Wachstum über. Besonders häufig finden sich darunter solche Kulturen, die mit der morphologischen Blattoberseite auf dem Nährboden liegen. In der Regel überwiegt bei der Entwicklung dieser Blattstückchen die Vermehrung des Mesophylls. Es kann dabei zu einem ausgesprochenen Randwachstum kommen. Teilen sich die Zellen des mittleren Bereiches stärker, platzt auch die Epidermis der nach oben zeigenden Seite, wie es für die das Substrat berührende Fläche beschrieben worden ist. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, daß die Epidermis selber zu Calluswachstum übergeht. In diesem Fall ist die Grenze zwischen epidermalem und parenchymatischem Gewebe nach kurzer Zeit nicht mehr erkennbar.

Die Bevorzugung der morphologischen Blattoberseite für die Regeneration ist sehr ausgeprägt. Es wurde ein Fall beobachtet, in dem diese Zwiebeln ausbildete, obgleich sie dem Substrat auflag. Die nach oben weisende Blattunterseite riß auf, es drangen Calluswucherungen hervor, und sogar eine Wurzel trat aus. Doch bildete dieses Extrem eine Ausnahme.

Obgleich das Epidermisgewebe beider Seiten nach kurzer Kulturdauer verlorengeht, zumindestens in seiner eigentlichen Struktur und Funktion, ist es unersetzlich für die Primärentwicklung eines Blattstückchens. Es ist bisher nicht gelungen, reines Mesophyll oder Blattgewebe mit nur einer Epidermis in Kultur zu nehmen. Blattstückchen, denen die Oberhäute entfernt werden, sterben nach wenigen Tagen ab. Hat das Wachstum einmal begonnen, scheint die Epidermis mit ihrer Struktur auch ihre Bedeutung für die Entwicklung zu verlieren.

Während ein von der Epidermis gebildeter Callus kleinzellig ist, bestehen ältere Kulturen hauptsächlich aus großzelligem, parenchymatischem Gewebe. Die Wachstumszone liegt dann einem Cambium entsprechend unter der Oberfläche und gibt vorwiegend nach innen Zellen ab. Die äußersten Zellschichten sind abgestorben. Häufig bleibt auch die als Cambium dienende Schicht nur an einigen Stellen teilungsfähig, die übrigen Regionen sterben allmählich ab. Auf diese Weise kommt eine sehr unregelmäßige Oberfläche in älteren Kulturen zustande.

Die lebenden Zellen führen Stärke und zwar die in den grünen Teilen vorkommende kleinkörnige Form. Die in den Zwiebelschuppen vorhandenen großen, geschichteten Körner sind nicht aufgetreten. Die Blattstruktur geht in älteren Kulturen vollständig verloren. An Differenzierungen kommen außer den noch zu besprechenden Sproßregeneraten

nur unregelmäßig verteilte Tracheidengruppen vor. Wurzelbildungen konnten nicht beobachtet werden.

Brutzwiebeln entstehen an schnell wachsenden Calli und zwar auch hier exogen. Die gewöhnlich vorhandenen abgestorbenen Zellschichten werden durch das neugebildete Gewebe beiseite gedrängt. Dieses wird durch rasche Teilungsfolgen ohne Streckungswachstum meristematisch. Es entstehen Gewebehöcker, die denen an normalen Blättern gleichen, mit einer Leitbündelanlage im Zentrum. Aus einem oder mehreren Vegetationspunkten entwickeln sich normale Pflanzen. Regenerierende Gewebe zeigen stärkeren Chlorophyllgehalt als langsam wachsende, großzellige Calli. Die Chloroplasten sind stets kleiner als die in den Blättern vorkommenden.

Wurzelanlagen entwickeln sich nur in den Primärkulturen. Sie entstehen aus dem Leitbündelparenchym, häufig zu mehreren dicht nebeneinander. Ein unmittelbarer Zusammenhang mit den Sproßknospen ist auch hier nicht nachzuweisen. Die Entstehungs- und Wachstumsrichtung ist unterschiedlich, in der Regel aber positiv geotropisch oder plagiotrop. Es kommen Ausnahmen vor (s. S. 614). Die meisten der angelegten Wurzeln durchbrechen das umgebende Parenchym nicht, auch die auswachsenden haben im Höchstfalle eine Länge von 1 cm erreicht.

Der Mangel an Wurzelanlagen in älteren Calluskulturen ist vielleicht auf das Fehlen von normal ausgebildetem Leitgewebe zurückzuführen. An Brutzwiebeln entstandene Wurzeln wachsen auch in diesen Kulturen normal aus.

Die in den Blättern reichlich vorhandenen Raphidenbündel fehlen in den Calluskulturen vollständig. Auch Oxalatabscheidungen in anderer Form konnten nicht aufgefunden werden. In den Regeneraten erscheinen sie dagegen an den normalen Stellen.

### D. Besprechung der Ergebnisse

Das außerordentlich starke Regenerationsvermögen von *Drimiopsis kirkii* beruht auf der Fähigkeit der Blattzellen, wieder teilungsfähig zu werden und meristematisches Gewebe zu bilden. Den Anstoß zu dieser Tätigkeit gibt eine Störung der normalen Verhältnisse im Blatt, besonders der Beziehung zum Sproßpol. Diese Störung kann mechanischer Natur sein, also eine Unterbrechung des Zusammenhanges zwischen Teilen des Blattes und dem Vegetationskegel darstellen. Sie kann auch durch funktionelle Hemmungen in einzelnen Blattabschnitten hervorgerufen werden. Die sichtbare Folge ist eine Stoffstauung, die in beiden Fällen durch eine Anhäufung von Assimilationsstärke gekennzeichnet ist. Ob diese Anreicherung an Baustoffen wirklich das entscheidende Moment darstellt, kann nicht entschieden werden.

Ein Versorgungsmangel an Wasser und Mineralstoffen spielt bei der Auslösung der Sproßentwicklung keine Rolle; denn in diesem Falle dürften abgetrennte, mit Querschnitten versehene Blätter, die senkrecht mit der Basis in den Boden oder in Wasser gesteckt werden, am besten oberhalb der Verletzungen regenerieren. Dort ist die Wasserversorgung am geringsten. Wie festgestellt werden konnte, tritt Brutzwiebelbildung an diesen Stellen nur in Ausnahmefällen ein. Dagegen ist die Knospenentwicklung an entsprechend behandelten Blättern, die man horizontal auf eine feuchte Unterlage bringt, die Regel.

Über die Regenerationsauslösung ist sehr wenig bekannt. Die Knospenentwicklung in Gewebekulturen, die aus Tabaksprossen gewonnen wurden, kann durch Adeninzugabe gefördert und durch $\beta$-Indolylessigsäure gehemmt werden (Miller und Skoog 1953). *Drimiopsis*-kulturen lassen eine Hemmung auch durch hohe IES-Konzentrationen (100 mg/l) nicht erkennen. Es sind weder in Primärkulturen, die noch den typischen Blattbau zeigen, noch in Sekundärkulturen Unterschiede in der Regeneration aufgetreten, die sich auf eine $\beta$-Indolylessigsäure-Wirkung zurückführen lassen.

Auch das Fehlen von Brutzwiebelbildung nach einer Behandlung mit Wuchsstoffpaste ist sicher keine Folge einer Hemmung durch IES. In diesem Falle hätten sich Adventivsprosse an den mit Kontrollpaste behandelten Schnitten zeigen müssen. — Ob Adenin die Regeneration bei *Drimiopsis* beeinflussen kann, soll in späteren Versuchen mit Gewebekulturen geprüft werden.

Die Frage nach den regenerationsauslösenden Faktoren muß offenbleiben. Mit Sicherheit lassen sich an Blättern, die der Pflanze verbleiben, nur jahreszeitliche Schwankungen verfolgen. Diese sind durch eine Verlängerung der Beleuchtungsdauer allein nicht aufzuheben. Daß dieser Rhythmus sehr ausgeprägt ist, zeigen die Versuche mit Blattstecklingen, an denen er, wenn auch abgeschwächt, ebenfalls in Erscheinung tritt.

Die fehlende Wirkung der Produkte des intermediären Stoffwechsels, deren fördernde Wirkung auf *Bryophyllum* durch Kakesita (1928, 1930) beschrieben worden ist, läßt sich vielleicht auf den grundlegenden Unterschied in der Entstehung der Blattknospen zurückführen. Bei *Bryophyllum* sind von vornherein Meristeme vorhanden, deren Auswachsen lediglich gefördert werden muß. Für die Entwicklung der Brutsprosse von *Drimiopsis*, bei denen es sich um echte Neubildungen handelt, muß zunächst eine Entdifferenzierung ausgewachsener Zellen eingeleitet werden. Auf diesen Prozeß haben die genannten Stoffe keinen Einfluß.

Ein Zusammenhang zwischen der Brutzwiebelbildung und der Zone des interkalaren Blattwachstums (Troll 1938, S. 1120) ist bei *Drimiopsis* nicht zu erkennen. Es sind unter geeigneten Bedingungen alle Teile des

Blattes zur Regeneration fähig. An nicht abgetrennten Blättern sind es häufig die der Blattspitze am nächsten gelegenen Schnitte, an denen bei mehreren hintereinanderliegenden Wunden sich die Regenerate am schnellsten entwickeln. Da die Blätter basal-interkalar wachsen, sind die Spitzen die ältesten Teile.

Dagegen ist es möglich, daß Ernährungsbedingungen für den Regenerationsort eine Rolle spielen. Darauf weist außer den schon genannten Assimilatanhäufungen oberhalb von Verletzungen die Förderung der Knospenbildung längs des Randes von Blattstückchen hin, die auf einem zuckerhaltigen Nährboden kultiviert werden. Besonders in den ersten Kulturwochen, solange die Nährstoffaufnahme wahrscheinlich zum größten Teil über den Schnittrand erfolgt, zeigt sich eine ringförmige Förderungszone.

Eine Bindung der Brutzwiebelentwicklung an die Bezirke oberhalb der Leitbündel ist nicht festzustellen. Diese verlaufen jedoch so dicht nebeneinander, daß die Unterschiede in der Entfernung zu ihnen zu gering sind, um noch in Erscheinung zu treten. Eine Verbindung von der Sproßanlage zum Leitbündel des Mutterblattes entwickelt sich in jedem Fall.

Es konnte gezeigt werden, daß an der Pflanze befindliche, annähernd waagerecht stehende Blätter auf beiden Seiten etwa gleich häufig regenerieren. Ein Einfluß der Schwerkraft auf den Ort der Brutzwiebelbildung ist daher nicht wahrscheinlich. Auch eine Wirkung der Lichtrichtung möchte ich nicht annehmen, obgleich die Förderung der dem Licht zugewendeten Oberseite an invers gezogenen Pflanzen darauf deutet. Vergleicht man aber das Ergebnis mit den an Blattstecklingen und an isolierten Blattstückchen erhaltenen, so fällt auf, daß es auch hier die morphologische Blattoberseite ist, auf der die Brutzwiebeln fast ausschließlich entstehen. Es ist möglich, daß die von der normalen Lage im Raum abweichende Stellung der Pflanzen auf die Korrelation zwischen Vegetationskegel und Blättern eine Wirkung ausübt, die einer Isolierung ähnlich ist.

## Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Entwicklungsgeschichte der vorzugsweise am apikalen Rand von Verletzungen auf den Blättern von *Drimiopsis kirkii* entstehenden Brutzwiebeln wird beschrieben.

2. Auf Grund der Beobachtungen sind die Brutzwiebeln als rein epidermale Bildungen anzusehen. Vom Mesophyll werden lediglich die Verbindungen zum Leitbündel differenziert.

3. Es stellte sich heraus, daß die Brutzwiebelbildung an der intakten Pflanze vom Alter der Blätter abhängig ist und außerdem einem

jahreszeitlichen Rhythmus unterliegt. Die Adventivsprosse entstehen bevorzugt an Blättern mittleren Alters. Das Maximum der Brutzwiebelbildung liegt im Frühjahr.

4. Auch die Reaktionsdauer ist von der Jahreszeit abhängig und weist im Frühjahr die kleinsten Werte auf.

5. Durch Anwendung von $\beta$-Indolylessigsäure, Produkten des intermediären Stoffwechsels und Gewebepreßsaft konnte an der intakten Pflanze keine Förderung der Brutzwiebelbildung erzielt werden.

6. Die im Winter fehlende Brutzwiebelbildung konnte durch Verlängerung der täglichen Beleuchtung nicht induziert werden.

7. Eine Wirkung der Schwerkraft auf den Ort der Brutzwiebelentwicklung ließ sich nicht feststellen.

8. An invers kultivierten Pflanzen entstanden die Brutzwiebeln, ebenso wie an Blattstecklingen und isolierten Blattstückchen, vorzugsweise auf der morphologischen Blattoberseite. Eine Wirkung der Lichtrichtung auf den Regenerationsort ist nicht wahrscheinlich.

9. Von der Pflanze abgetrennte ganze Blätter oder Teile abgetrennter Blätter regenerieren am basalen Ende.

10. Die Infiltration von Blattstecklingen mit IES oder Gewebepreßsaft ergab eine Förderung der Brutzwiebelbildung gegenüber einer entsprechenden Behandlung mit Wasser.

11. Ein jahreszeitlicher Rhythmus macht sich an isolierten Blättern nur in bezug auf die Reaktionsdauer bemerkbar, d. h., es werden auch im Winter nach genügend langer Kultur Brutzwiebeln entwickelt.

12. Blattstecklinge können auch Wurzeln ausbilden. Diese entstehen in der Regel in einer kürzeren Zeit als die Adventivsprosse.

13. Isoliert kultivierte Abschnitte einer Lamina zeigen Unterschiede in bezug auf die Regenerationszeit. Untere Spreitenteile regenerieren in einer kürzeren Zeit als die übrigen Abschnitte.

14. Versuche, bei Stecklingen mit Hilfe von Wuchstoffpaste eine Umkehrung der Polarität der Regeneration zu erreichen, verliefen negativ.

15. Es wird die sterile Kultur kleiner Spreiten-Stückchen beschrieben.

Herrn Professor Dr. H. DRAWERT danke ich für die Anregung zu diesen Untersuchungen. Ebenso möchte ich Frau Privatdozentin Dr. CH. THIELKE für zahlreiche technische Hinweise danken.

## Literatur

BALANSARD, J., et F. PELLISSIER: Action de l'hétéroauxine sur la bouturage foliaire de quelques Bégoniacées. C. r. Soc. Biol. Paris **136**, 305 (1942a). — Le bouturage foliaire et l'action inhibitrice des produits de sécrétion naturelle des plantes. C. r. Soc. Biol. Paris **136**, 307 (1942b). — Action de l'acide indole acétique sur l'enracinement des feuilles de Lierre (*Hedera helix* L.). C. r. Soc. Biol. Paris **136**,

562 (1942c). — Nouveaux résultats sur l'action de l'hétéroauxine, facteur d'enracinement des feuilles ou parties de feuilles. C. r. Soc. Biol. Paris **136**, 624 (1942d). — Le bourgeonnement épiphylle provoqué par l'hétéroauxine dans la feuille d'*Achimenes grandiflora* (Gesneracées). C. r. Soc. Biol. Paris **136**, 625 (1942e). — Behre, K.: Physiologische und cytologische Untersuchungen über *Drosera*. Planta (Berl.) **7**, 208 (1929). — Beijerinck, M. W.: Over het outstan van knoppen en wortels uit bladen. Ned. Kruidk. Arch. 2. Ser. **3**, 438 (1882). — Beinling, E.: Untersuchungen über die Entstehung der adventiven Wurzeln und Laubknospen an Blattstecklingen von *Peperomia*. Beitr. Biol. Pflanz. **3**, 25 (1883). — Bloch, R.: Wound healing in higher plants. I. Bot. Review **7**, 110 (1941). — Wound healing in higher plants. II. Bot. Review **18**, 655 (1952). — Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze, 3. Aufl. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — Buvat, R.: Récherches sur la dédifférenciation des cellules végétales. Ann. Sci. natur., Bot. ser. XI **5**, 1 (1944). — Child, C. M., and A. W. Bellamy: Physiological isolation by low temperature in *Bryophyllum*. Bot. Gaz. **70**, 249 (1920). — Chouard, P. C.: L'appareil végétatif chez les Scillées. Ann. Sci. natur., Bot. ser. X **13**, 132 (1931). — Intervention de l'épiderme dans la formation des bulbilles sur les feuilles vertes des Liliacées. C. r. Acad. Sci. Paris **197**, 1685 (1933). — Production expérimentale de bourgeons sous l'effet des hétéroauxines. C. r. Acad. Sci. Paris **206**, 1401 (1938a). — Sur la nature d'excitation par les hétéroauxines dans la formation provoqué de racines ou de bourgeons en n'importe quel point de boutures de feuilles. C. r. Acad. Sci. Paris **207**, 597 (1938b). — Crüger, H.: Einiges über die Gewebeveränderungen bei der Fortpflanzung durch Stecklinge. Bot. Ztg **18**, 369 (1860). — Decandolle, A. P.: Pflanzenphysiologie, Bd. 2. Übersetzt von Joh. Röper. Stuttgart u. Tübingen 1835. — Denffer, D. v.: Über die photoperiodische Beeinflußbarkeit von Habitus und Sukkulenz bei einigen Crassulaceen-Arten. Jb. wiss. Bot. **89**, 543 (1941). — Drawert, H.: Über das Auftreten blattbürtiger Adventivsprosse bei *Drimiopsis Kirkii* Bak. nach Verwundung. Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 401 (1952). — English, J., J. Bonner and A. J. Haagen-Smit: The wound hormones of plants. II. The isolation of a crystalline active substance. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **25**, 323 (1939). — Figdor, W.: Zur Kenntnis der Regeneration von *Crassula multicava*. Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 241 (1918). — Fischnich, O.: Über den Einfluß von $\beta$-Indolylessigsäure auf die Blattbewegungen und die Adventivwurzelbildung von *Coleus*. Planta (Berl.) **24**, 552 (1935). — Gautheret, R. J.: Manuel technique de culture des tissus végétaux. Paris 1942. — Catalogue des cultures de tissus végétaux. Rev. gén. Bot. **61**, 672 (1954). — Goebel, K.: Regeneration im Pflanzenreich. Biol. Zbl. **22**, 304 (1902). — Studien über Regeneration. Flora (Jena) **92**, 132 (1903). — Allgemeine Regenerationsprobleme. Flora (Jena) **95**, 384 (1905). — Einleitung in die experimentelle Morphologie. Leipzig u. Berlin 1908. — Morphologische und biologische Bemerkungen. 18. Brutknospenbildung bei *Drosera pygmaea* und einigen Monocotylen. Flora (Jena) **98**, 324, 501 (1908). — Goetz, O.: Über die Brutknospenbildung der Gattung *Bryophyllum* im Langtag und Kurztag. Z. Bot. **41**, 4 45 (1953). — Haberlandt, G.: Kulturversuche mit isolierten Pflanzenzellen. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **111**, 69 (1902). — Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. Beitr. allg. Bot. **2**, 1 (1921). — Hagemann, A.: Untersuchungen an Blattstecklingen. Gartenbauwiss. **6**, 69 (1932). — Hansen, A.: Über Adventivbildungen. Sitzgsber. physik.-med. Ges. Erlangen **1880**, 1—5. — Harig, A.: Untersuchungen über die experimentelle Beeinflußbarkeit von Wachstumsvorgängen bei vegetativer Fortpflanzung und Regeneration. Planta (Berl.) **15**, 43 (1931). — Hartsema, A. M.: Anatomische und experimentelle Untersuchungen über das Auftreten von Neubildungen an den

Blättern von *Begonia rex*. Rec. Trav. bot. néerl. **23**, 305 (1926). — Heller, R.: Récherches sur la nutrition minérale des tissus végétaux cultivés in vitro. Ann. Sci. natur., Bot. sér. XI **14**, 1 (1953). — Isbell, C. L.: Regeneration in leaf cuttings of *Ipomaea batatas*. Bot. Gaz. **91**, 411 (1931). — Johansen, P. A.: Plant microtechnique. New York and London 1940. — Kakesita, K.: Studies of regeneration in *Bryophyllum*. Jap. J. Bot. **4**, 27 (1928). — Experimental studies on the regeneration in *Bryophyllum calycinum*. Jap. J. Bot. **5**, 219 (1930/31). — Kandler, O.: Versuche zur Kultur isolierten Pflanzengewebes in vitro. Planta (Berl.) **38**, 564 (1950). — Kemp, E. E.: Regeneration from mutilated leaves in monocotyledons. Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh **19**, 187 (1936). — Kerner, A.: Pflanzenleben, Bd. 2, S. 35. Leipzig u. Wien 1894. — Kröner, E.: Experimentelle Beiträge zum Photoperiodismus der vegetativen Vermehrung der Gattung *Kalanchoe*. Flora (Jena) **142**, 401 (1955). — Kupfer, E.: Studies in plant regeneration. Mem. Torrey Bot. Club **12**, 195 (1907). — Laibach, F.: Versuche mit Wuchsstoffpaste. Ber. dtsch. bot. Ges. **51**, 368 (1933). — Über die Auslösung von Kallus- und Wurzelbildung durch $\beta$-Indolylessigsäure. Ber. dtsch. bot. Ges. **53**, 359 (1935). — Laibach, F., G. Mai u. A. Müller: Über ein Zellteilungshormon. Naturwiss. **22**, 288 (1934). — Ledien, Fr.: *Scilla Ledieni* Engl. Gartenflora **38**, 153 (1889). — Loeb, J.: Rules and mechanism of inhibition and correlation in the regeneration of *Bryophyllum calycinum*. Bot. Gaz. **60**, 249 (1915). — Quantitative laws in regeneration. III. The quantitative basis of polarity in regeneration. J. Gen. Physiol. **4**, 447, 461 (1922). — Theory of regeneration based on mass relation. III. Further experiments on the cause of the polar character of regeneration. J. Gen. Physiol. **6**, 463 (1924). — Regeneration. New York 1924. — Magnus, P.: Sitzgsber. des Bot. Vereins Prov. Brandenburg 3. Mai 1873. — Meyen, F. J. F.: Neues System der Pflanzenphysiologie, Bd. III. Berlin 1839. — Meyer, G.: Über photoperiodische Beeinflußbarkeit der Brutpflanzenbildung bei *Bryophyllum tubiflorum*. Z. Bot. **41**, 247 (1953). — McVeigh, I.: Regeneration in *Crassula multicava*. Amer. J. Bot. **25**, 7 (1938). — Miller, C., and F. Skoog: Chemical control of bud formation in tobacco stem segments. Amer. J. Bot. **40**, 768 (1953). — Moureau, J.: Rhizogénèse chez *Coleus*, sous l'influence de l'hétéroauxine, histologie et physiologie du phénomène. Bull. Soc. roy. bot. Belg. **73**, 142 (1941). — Münter, J.: Bemerkungen über besondere Eigentümlichkeiten in der Vermehrung der Pflanzen durch Knospen. Bot. Ztg **3**, 537 (1845). — Prevot, P. C.: La néoformation des bourgeons chez les végétaux. Soc. roy. Sci. Liège, Mem. sér. IV **3**, 173 (1939). — Regel, F.: Die Vermehrung der Begoniaceen aus ihren Blättern. Jena. Z. Naturwiss. **1876**, 477. — Reiche, H.: Über Auslösung von Zellteilungen durch Injektion von Gewebesäften und Zelltrümmern. Z. Bot. **16**, 241 (1924). — Resende, F.: Accao morfogenética do frio a do fotoperiodismo no „Habitus" vegetativo de *Bryophyllum Daigremontianum*. Bol. Soc. portug. Ci. nat., II. ser. **3**, 256 (1951). — Ruge, U.: Übungen zur Wachstums- und Entwicklungsphysiologie der Pflanze. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1951. — Schleiden, M. J.: Grundzüge der wissenschaftlichen Botanik, 2. Aufl. Leipzig 1846. — Schmucker, Th.: Isolierte Zellen und Gewebe von Blütenpflanzen. Planta (Berl.) **9**, 339 (1929). — Schubert, O.: Bedingungen zur Stecklingsbildung und Pfropfung von Monocotylen. Zbl. Bakter., 2. Abt. **38**, 309 (1913). — Simon, S.: Über die Beziehungen zwischen Stoffstauung und Neubildungsvorgängen in isolierten Blättern. Z. Bot. **12**, 593 (1920). — Skoog, F., and J. R. Jablonski: Cell enlargement and cell division in excised tobacco pith tissue. Physiol. Plantarum (Copenh.) **7**, 16 (1954). — Stingl, G.: Über regenerative Neubildungen an isolierten Blättern phanerogamer Pflanzen. Flora (Jena) **99**, 178 (1909). — Stoudt,

H. N.: Gemmipary in *Byrnesia weinbergii*. Amer. J. Bot. **21**, 562 (1934). — SWINGLE, C. F.: Regeneration and vegetative propagation. Bot. Review **6**, 301 (1940). — Regeneration and vegetative propagation. II. Bot. Review **18**, 1 (1952). — THIELKE, CH.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und Physiologie panaschierter Blätter. Planta (Berl.) **36**, 2 (1949). — TRIMEN, H.: Liliaceae. Handbook of the flora of Ceylon. vol. 4, p. 57. 1898. — TREVIRANUS, CH. L.: Physiologie der Gewächse, Bd. 2. Bonn 1883. — TROLL, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. I, Teil 2. Berlin 1938. — TUREL, F. L. M., and M. M. HOWES: Safflower leaf tissue cultures. Canad. J. Bot. **34**, 825 (1956). — USPENSKY, E. E., u. W. J. USPENSKAJA: Reinkultur und ungeschlechtliche Fortpflanzung des *Volvox minor* und *Volvox globator* in einer synthetischen Nährlösung. Z. Bot. **17**, 273 (1925). — VRIES, H. DE: Über die abnormale Entstehung sekundärer Gewebe. Jb. wiss. Bot. **22**, 35 (1891). — WAKKER, J. H.: Onderzoekingen over adventive knoppen. Diss. Amsterdam 1885. — WALKER, R. J.: Regeneration in the scale leaf of *Lilium candidum* and *L. longiflorum*. Amer. J. Bot. **27**, 114 (1940). — WHITE, R. P.: Influence of some environmental conditions on the growth of excised root tips of wheat seedlings in liquid media. Plant Physiol. **7**, 613 (1932). — A handbook of plant tissue culture. New York 1943. — Nutrient deficiency studies and an improved inorganic nutrient for cultivation of excised tomato roots. Growth **7**, 53 (1943). — The cultivation of animal and plant cells. New York 1954. — WINKLER, H.: Über regenerative Sproßbildung auf den Blättern von *Torenia asiatica* L. Ber. dtsch. bot. Ges. **21**, 96 (1903). — YARBROUGH, J. A.: Anatomical and developmental studies of the folian embryos of *Bryophyllum calycinum*. Amer. J. Bot. **19**, 443 (1932). — History of leaf development in *Bryophyllum calycinum*. Amer. J. Bot. **21**, 467 (1934).

Dr. INGEBORG LENSKI,
Berlin-Dahlem, Pflanzenphysiolog. Inst. d. Fr. Univ., Königin-Luise-Str. 1—3

Planta, Bd. 50, S. 622—639 (1958)

Aus dem Staatsinstitut für Allgemeine Botanik Hamburg

# ÜBER BEZIEHUNGEN ZWISCHEN ATMUNGSWERTEN UND ZELLGRÖSSEN

Von

FRANZ BRABEC

Mit 2 Textabbildungen

*(Eingegangen am 18. Oktober 1957)*

Aus einer Reihe von Veröffentlichungen über die physiologischen Leistungen polyploider Pflanzen geht hervor, daß deren Leistungen im Verhältnis zu denen der diploiden Ausgangsformen herabgesetzt sind (STÅLFELT, 1943; LARSEN, 1943; EKDAHL, 1944; SCHWANITZ, 1950, 1953). Polyploide haben in der Regel größere Zellen als die vergleichbaren Diploiden (TISCHLER, 1953). Von SCHWANITZ (1950, 1951a, b, 1953) wurden die Befunde hinzugefügt, daß viele diploide Kulturpflanzen sich durch größere Zellen und dadurch bedingten Gigaswuchs von den vergleichbaren diploiden Wildformen oder Primitivformen unterscheiden. Schließlich konnte in einigen Fällen nachgewiesen werden, daß solche diploiden „Gigaspflanzen" in ähnlicher Weise wie Polyploide geringere physiologische Leistungen aufweisen als die Wildarten (SCHWANITZ und SCHENK, 1954).

Da Zellvergrößerung Verminderung der relativen Oberfläche der Zellen, ausgedrückt durch den Quotienten $O/V$ bedeutet, ist aus den vorgenannten Befunden der Schluß gezogen worden, daß in eben dieser Verminderung der relativen Oberfläche die Ursache für die Leistungsminderung von sowohl diploiden wie polyploiden gigaswüchsigen Pflanzen zu suchen sei (SCHWANITZ, 1953; SCHWANITZ und SCHENK, 1954). Diese Schlußfolgerungen sind nun aber durch Gegenüberstellung von genetisch unterschiedlichem Material, von Polyploiden gegenüber Diploiden, bzw. von großzelligen Diploiden gegenüber kleinzelligen Diploiden, gewonnen worden. Es bleibt daher die Frage offen, wieweit die festgestellten Leistungsänderungen wirklich als unmittelbare Folge der Zellgrößenänderungen anzusehen sind. Die Zusammenhänge könnten z. B. auch so verstanden werden, daß die Leistungsänderung unmittelbar genetisch, sei es durch Genänderung oder durch Genquantitätsänderung, bedingt und daß die Zellgrößenänderung eine mehr unspezifische Begleiterscheinung sei. Diese Frage läßt sich jedoch nur an genetisch einheitlichem Material prüfen. Da direkte experimentelle Befunde über die Abhängigkeit physiologischer Leistungen von der Zellgröße bisher nicht vorliegen, sollen die hier mitgeteilten Unter-

suchungen, bei Beschränkung auf den Versuch einer Klärung der Beziehungen zwischen Atmungswerten und Zellgrößen, dazu beitragen, diese Lücke zu schließen.

## Material und Methode

Die Untersuchungen wurden mit einer seit 10 Jahren in Kultur gehaltenen, in ihren Merkmalen konstanten Sippe von *Lycopersicum pimpinellifolium* Mill. durchgeführt.

Die Pflanzen wurden im Gewächshaus herangezogen. Jeweils einen Tag vor der Atmungsmessung wurden die 8—10 Wochen alten Sämlingspflanzen entgipfelt und ausgegeizt. Die Blattzahl wurde so korrigiert, daß stets eine gerade Anzahl von Blättern erhalten blieb. Die zwischen den großen Blattfiedern stehenden minderen Fiedern wurden entfernt, um die späteren Flächenmessungen nicht unnötig zu komplizieren. Um die Boden- und Wurzelatmung auszuschalten, wurden die Töpfe in Kunststoffbeutel gesetzt. Die oberen Enden der Beutel wurden dort, wo sie um den Pflanzenstengel zusammengeschnürt werden sollten, innen mit Wollfettpaste bestrichen, so daß nach dem Abschnüren alle dabei entstehenden Falten innen zuverlässig abgedichtet waren. Die Beutel wurden mit straffgezogenen Gummibändern unter Verwendung von Knebeln (Glasstäben) fest um die Pflanzenstengel gebunden. Auf diese Weise konnte nach Abschluß der Messung der Verband sehr leicht wieder gelöst werden. Abschließend wurde die Verbindungsstelle zwischen Beutel und Stengel von oben mit Wollfettpaste bestrichen. Vorversuche hatten ergeben, daß diese Abdichtung genügend zuverlässig ist, um die Bodenatmung auszuschalten. Vor dem Einbinden wurden die Pflanzen noch einmal begossen.

Die von den Pflanzen ausgeschiedenen $CO_2$-Mengen wurden mit einem Ultrarotabsorptionsschreiber (URAS) gemessen. Die Meßanordnung war im Prinzip die gleiche, wie sie von NUERNBERGK (1955) beschrieben wurde. Es standen zwei Plexiglasküvetten von 30 cm Höhe und 30 cm Durchmesser zur Verfügung, die durch PVC-Schlauchleitungen an den Gasumschalter des URAS angeschlossen waren. So konnten immer zwei Messungen gleichzeitig durchgeführt werden. Die Küvetten hatten je einen unteren und oberen Stutzen für die Durchleitung der Luft. Durch eine hinter die Küvette geschaltete Magneto-Membranpumpe wurde die Luft angesaugt. Über je einen durchs Fenster des Kellerraums, in dem der URAS aufgestellt war, geführten PVC-Schlauch wurde den Küvetten Außenluft zugeführt. Zur Trocknung wurde die aus der Küvette kommende Luft durch eine mit Blaugel gefüllte Absorptionssäule geschickt. Die Durchströmungsgeschwindigkeit wurde durch ein hinter die Trockensäule geschaltetes Rotameter kontrolliert. Bei allen Messungen wurde mit einem Luftdurchsatz von 1 Liter/Min. gearbeitet. Die Differenz gegen die mit aufgezeichnete Außenluftkurve wurde planimetrisch bestimmt.

Die in der oben beschriebenen Weise vorbereiteten Pflanzen wurden jeweils gegen 14 Uhr in die Küvetten gesetzt, je zwei Pflanzen in jede Küvette. Die Küvetten wurden mit dem offenen Ende auf 6 mm starke Paragummiplatten gesetzt. Ein dem Öffnungsring der Küvetten entsprechender Ringstreifen auf den Platten wurde zur Abdichtung mit Vaseline bestrichen. Die Küvettenöffnungen waren plan geschliffen und die Gummiplatten lagen auf planen Glasplatten. Um zuverlässigen Abschluß zu gewährleisten, wurde jede Küvette noch durch eine mit Wasser gefüllte Küvette beschwert. Leerversuche ergaben, daß auf diese Weise ein ausreichender Abschluß erreicht war. Zur Lichtabschirmung wurde über jede

Küvette eine Hülle aus schwarzem Kunststoff gezogen. Die Stutzen für die Luftzu- und -ableitung wurden ebenfalls mit schwarzen Kunststoffmanschetten versehen.

Als Atmungsleistung wurde jeweils die Zeit maximaler Atmung zwischen 24 und 6 Uhr gewertet (Abb. 1). Im Dauerdunkel zeigten die Pflanzen einen Atmungsrhythmus mit Tagesminimum und Nachtmaximum, der mit zunehmender Verdunkelungsdauer bald abklang, bis nur noch eine allmähliche Abnahme der Atmung, offenbar im Zusammenhang mit der Verarmung an zur Veratmung zur Verfügung stehenden Reservestoffen, zu erkennen war. Bei den normalwüchsigen Pflanzen wurde jeweils der halbe planimetrisch bestimmte Meßwert genommen, da auf die halbe Blattmasse bezogen wurde (s. unten). Der Meßwert pro Stunde wurde in pro Stunde ausgeschiedene mg $CO_2$ umgerechnet.

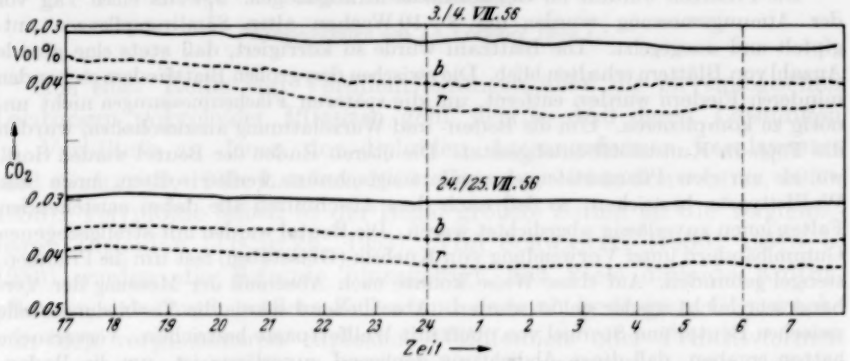


Abb. 1. $CO_2$-Ausscheidung zweier Pflanzengruppen (je 2 Pflanzen) vor (3./4. 7. 56) und nach (24./25. 7. 56) der Zellvergrößerung. Ausgezogene Kurven: Außenluft. Punktierte Kurven: Meßkurven der Pflanzen. *b* u. *r*: Bezeichnung der Küvetten. Zwischen den senkrechten Linien (24—6 h) der jeweils planimetrisch ausgewertete Kurvenbereich. Man beachte das nächtliche Maximum der $CO_2$-Abgabe

Leider stand für die Durchführung der Untersuchung kein temperaturkonstanter Raum zur Verfügung. Der Temperaturbereich, in dem die Messungen durchgeführt wurden, lag zwischen 17 und 24° C, die überwiegende Mehrzahl der Messungen (etwa 80%) verlief bei Temperaturen zwischen 18 und 22° C. Alle Werte wurden unter Zugrundelegung eines $Q_{10} = 2$ (JAMES, 1953, Tabelle 4) auf 20° C umgerechnet.

Nach der Atmungsmessung wurde von allen Blättern die Hälfte der Fiederblätter, dazu von jedem zweiten Blatt die Spitzenfieder abgenommen, so daß insgesamt etwa die Hälfte der Blattmasse entfernt, die andere Hälfte an der Pflanze verblieben war. Von der abgenommenen Blattmasse wurde das Frischgewicht bestimmt, dann die Fläche unter einer Glasplatte mit dem Planimeter ausgemessen und schließlich nach Trocknung im Trockenschrank bei 105° C das Trockengewicht bestimmt. Nach der Flächenmessung wurden vorher bezeichnete Blättchen, je zwei von jeder Pflanze, also vier zu einem Meßwert gehörig, für die Zellgrößenbestimmung herausgenommen. Nach der Bestimmung wurde das dafür verwandte Material, einschließlich der hergestellten Schnitte, für die Trockengewichtsbestimmung wieder mit der übrigen Blattmasse vereinigt.

Für die Zellgrößenbestimmung wurde jeweils von jeder Pflanze je ein Fiederblättchen des zweit- oder drittuntersten und des zweit- oder drittobersten Blattes ausgewählt, um einen brauchbaren Durchschnittswert für die Zellgröße der Blätter jeder Pflanze zu bekommen. Das jeweils gegenüberstehende Blättchen wurde mit einem Faden markiert und für die Zellgrößenbestimmung in der zweiten Meßperiode benutzt.

Die zur Hälfte entblätterten Pflanzen wurden aus den sie umhüllenden Kunststofftüten wieder herausgenommen, ins Gewächshaus zurückgestellt und normal weiterkultiviert. Nur wurden in der Folgezeit alle etwa herauskommenden Achselsprosse oder Regenerationstriebe ausgeizt. Nach ca. 3 Wochen wurde erneut in der oben beschriebenen Weise die Atmungsleistung gemessen. Bis zu diesem Zeitpunkt waren die Blättchen nicht unbeträchtlich gewachsen und merklich sukkulent geworden, wie es in ähnlicher Weise bei Blattstecklingen beobachtet werden kann, wenn man das Austreiben von Adventivsprossen verhindert (Mothes und Engelbrecht, 1956). Es wurde darauf geachtet, daß die Pflanzen zur zweiten Messung wieder in die gleichen Küvetten kamen, in denen die erste Messung erfolgt war. Kontrollversuche hatten gezeigt, daß trotz aller Bemühungen, für beide Küvetten gleiche Bedingungen zu schaffen, kleine Unterschiede in den Meßwerten auftraten, deren Einfluß nur dadurch auszuschalten war, daß alle Messungen an ein- und derselben Pflanze auch in ein- und derselben Küvette durchgeführt wurden. Als Grund für den etwas unterschiedlichen „Küvettenfaktor" kommt vielleicht ein etwas unterschiedliches Arbeiten der Membranpumpen in Betracht, obgleich der durch die Rotameter angezeigte Luftdurchsatz in beiden Fällen gleich eingestellt war.

Nach der neuerlichen Atmungsmessung wurden wieder Frischgewicht, Fläche und Trockengewicht der restlichen Blattmasse und danach an den markierten Blättchen die Zellgröße bestimmt. Auch hier wurde natürlich das zur Zellgrößenbestimmung benutzte Material hernach wieder mit dem übrigen vereint. Die Zellgröße wurde in allen Fällen folgendermaßen ermittelt. Mit dem Zeichenapparat wurden aus Blattquerschnitten von jedem Blättchen 10 Palisadenzellen (anfangs 25, was aber arbeitszeitmäßig auf die Dauer nicht durchführbar war) herausgezeichnet. Da zu jedem Meßwert 2 Pflanzen = 4 Blättchen gehören, waren somit jedem Meßwert 40 Zellen zugeordnet. Die Umrißzeichnungen der Palisadenzellen wurden planimetriert. Aus den so gewonnenen Flächenwerten wurden mittels der für diesen Zweck umgeformten Zylinderformeln die zugehörigen Volumen- und Oberflächenwerte errechnet.

$$V = F \cdot \pi + \frac{\pi\, d^2}{2}; \quad O = F \cdot \pi\, \frac{d}{4}$$

($V$ = Volumen, $O$ = Oberfläche, $F$ = gemessene Fläche, $d$ = Zelldurchmesser). Die Durchmesserwerte wurden als mittlere Durchmesser aus je 10 Einzelmessungen pro Zelle bestimmt. Die so errechneten Volumen- und Oberflächenwerte der Palisadenzellen sind natürlich nur Näherungswerte, deren Genauigkeit einmal von der Zellgröße, zum andern davon abhängig ist, wie weit die einzelne Zelle in der Gestalt von der Zylinderform abweicht. Für den hier durchzuführenden Vergleich dürften die so gewonnenen Werte, zumal in Anbetracht der recht umfangreichen Meßreihen, hinreichend genau sein.

In der beschriebenen Weise wurden in 2 Versuchsgruppen (14. 3. bis 8. 5. 56 und 21. 6. bis 28. 7. 56) je 39 Atmungsmessungen an normalwüchsigen und an experimentell gigaswüchsig gemachten Pflanzen, insgesamt also 78 Atmungsmessungen mit den zugehörigen Nebenbestimmungen durchgeführt. Die Atmungswerte in mg/h ausgeschiedene Menge $CO_2$ wurden auf das Blattfrischgewicht, das Blatttrockengewicht und die Blattfläche bezogen. Die fehlerkritischen Prüfungen wurden nach Pätau (1943) und Weber (1956) durchgeführt.

## Ergebnisse

Wie schon z. T. im vorangegangenen Abschnitt ausgeführt wurde, war durch Dekapitieren der Pflanzen und Verhinderung des Austreibens nach der 1. Atmungsmessung ein künstlicher Gigaswuchs der Pflanzen erzielt worden. Es soll hier nicht geprüft werden, ob alle sonst dem Gigascharakter zugeordneten Merkmale in unserem Falle realisiert waren. Es genüge, auf die Merkmale hinzuweisen, die für unsere Problemstellung wichtig sind und einen späteren Vergleich mit Polyploiden ermöglichen. Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß zur Zeit der 2. Atmungsmessung die Blättchen durch Wachstum vergrößert und sukkulent geworden waren. Auch Länge und Durchmesser der Blattstiele und Stengel hatten zugenommen. Die Sukkulenz war insgesamt zweifellos durch Volumenvergrößerung vornehmlich der Mesophyllzellen und der Epidermiszellen bedingt. Die Größenänderung wurde jedoch nur an dem einen Zelltypus der Palisadenzellen verfolgt. Aus Tabelle 1 ist eine Volumenvergrößerung auf fast das 3fache des Ausgangsvolumens zu entnehmen. Gerade im Falle der Palisadenzellen ist zudem die Vergrößerung zum erheblichen Teil durch Längenwachstum bedingt. Die mittlere Zellänge hat von 86 $\mu$ bei den Normalpflanzen auf 141 $\mu$ bei den gigaswüchsig gewordenen, d. h. um 64% zugenommen. Diese Veränderung dürfte wesentlich zur Sukkulenz der Blätter beigetragen haben. Als weiteres Gigasmerkmal kommt die Veränderung des Wassergehaltes der Gewebe hinzu. Aus den Frisch- und Trockengewichten der Blätter läßt sich die Trockensubstanz in % des Frischgewichtes bestimmen. Sie beträgt $12{,}4 \pm 0{,}25$ bei den Normalblättern und $10{,}2 \pm 0{,}23$ bei den sukkulent veränderten. Der Unterschied ist mit $P < 0{,}0002$ gesichert. Der Wassergehalt ist demnach von 87,6% auf 89,8% gestiegen. Die Veränderung liegt im Rahmen dessen, was in vielen Fällen bei Polyploiden gefunden wird (SCHLÖSSER, 1940; PIRSCHLE, 1942a, b; SCHWANITZ 1949).

Tabelle 1 zeigt nun eine Gegenüberstellung der Meßergebnisse an normalwüchsigen und gigaswüchsig gewordenen Pflanzen.

Daraus ist ersichtlich, daß für alle Bezugsgrößen übereinstimmend, wenn auch in unterschiedlichem Maße, die Werte für die $CO_2$-Ausscheidung bei den großzellig gewordenen Pflanzen statistisch gesichert kleiner sind als bei den kleinzelligen Ausgangspflanzen. Dabei fällt auf, daß die auf die Blattflächeneinheit bezogene Leistungsabnahme einen ähnlichen Wert aufweist wie die Abnahme der relativen Oberfläche. Es dürfte jedoch geraten sein, daraus nicht zu voreilig eine einfache lineare Proportionalität zwischen beiden herauszulesen. Wie weiter unten gezeigt werden wird, ist die Beziehung zwischen den Ausscheidungswerten und der relativen Oberfläche der Zellen wahrscheinlich verwickelter. Insgesamt betrachtet kann jedoch kein Zweifel darüber

Tabelle 1. *Ausgeschiedene Mengen $CO_2$, gemessen an diploiden a) normalwüchsigen, b) gigaswüchsigen Pflanzen von Lycopersicum pimpinellifolium Mill.*

| | $\frac{mg\ CO_2/h}{g\ BFG}$ | $\frac{mg\ CO_2/h}{g\ BTG}$ | $\frac{10^{-2}\ mg\ CO_2/h}{cm^2\ BF}$ | Mittlere Zelloberfläche | Mittleres Zellvolumen | $O/V \cdot 100$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | in relativen Einheiten | | |
| a) Normal . | $1{,}41 \pm 0{,}06$ | $11{,}24 \pm 0{,}50$ | $2{,}84 \pm 0{,}14$ | 6643 | 33284 | 19,9 |
| b) Gigas . | $0{,}78 \pm 0{,}07$ | $7{,}59 \pm 0{,}70$ | $2{,}10 \pm 0{,}05$ | 13289 | 87984 | 15,1 |
| Änderung % | $-44{,}7$ | $-32{,}5$ | $-26{,}1$ | +100 | +164 | −24,1 |
| $P$ . . . . | $<0{,}0002$ | $<0{,}0002$ | $<0{,}0005$ | | | |

BFG = Blattfrischgewicht, BTG = Blatttrockengewicht, BF = Blattfläche, $O/V \cdot 100$ = rel. Oberfläche der Zellen, $P$ = Wahrscheinlichkeit der Übereinstimmung.

bestehen, daß die Abnahme der $CO_2$-Ausscheidung der Abnahme der relativen Zelloberfläche parallel läuft.

Aus den vorliegenden Daten läßt sich auch ein Wert für die $CO_2$-Ausscheidung der Einzelzelle errechnen. Es wurde nämlich noch die Frage untersucht, wie weit das durch Dekapitieren und Ausgeizen ausgelöste Wachstum der Blätter nur durch Zellvergrößerung oder außerdem auch durch Zellvermehrung bedingt sei. Dazu wurde an Flächenschnitten der Blattoberseiten die Zahl der Palisadenzellen pro Flächeneinheit bestimmt. Für die normalwüchsigen Pflanzen ergab sich ein Mittel (aus 4 Bestimmungen) von 1652 Zellen pro $mm^2$, für die gigaswüchsigen ein Mittel (aus ebenfalls 4 Bestimmungen) von 1013 Zellen pro $mm^2$. Bei Berücksichtigung der mittleren Blattflächenwerte für alle Messungen (13107 $mm^2$ für Normalpflanzen, 26776 $mm^2$ für Gigaspflanzen) ergibt sich eine Zunahme der Zellenzahl um 25,4%. Der künstlich hervorgerufene Gigaswuchs beruht also nicht allein auf Zellvergrößerung, sondern auch auf Zellvermehrung. Die Tomate verhält sich in dieser Hinsicht verschieden von anderen Objekten (*Nicotiana*, *Phaseolus*, *Symphytum*), bei denen künstlich induziertes Blattwachstum allein auf Zellvergrößerung beruht (Mothes und Engelbrecht, 1956). Wieweit sich bei der Zellvergrößerung auch die karyologischen Verhältnisse geändert haben könnten, ist vorerst nicht untersucht worden.

Aus den Atmungswerten pro Flächeneinheit und den zugehörigen Zellenzahlen lassen sich Werte für die $CO_2$-Ausscheidung pro Zelle errechnen, die entsprechend der Verringerung der Zellenzahl pro Flächeneinheit bei den Gigaspflanzen eine Zunahme der $CO_2$-Ausscheidung pro Zelle erkennen lassen. Stellt man weiterhin die mittlere Zelloberfläche in beiden Gruppen in Rechnung, so erhält man Werte, die die $CO_2$-Ausscheidung pro Einheit Zelloberfläche wiedergeben. Es ergibt sich eine Abnahme der Leistung pro Einheit Zelloberfläche um fast 40%

gegenüber einer Verminderung der relativen Oberfläche um rund 24% (Tabelle 2). Aus diesen Beziehungen ließe sich ablesen, daß die Leistungsänderung nicht nur als eine einfache Oberflächenfunktion aufgefaßt werden kann.

Über die Beziehung zwischen Ausscheidungswerten und Zellgrößen läßt sich noch in anderer Weise Aufschluß gewinnen. Zu jedem Meßwert gehört ein Wertepaar für Zelloberfläche und Zellvolumen, aus dem ein Wert für die diesem Ausscheidungswert zuzuordnende relative Zelloberfläche gewonnen werden kann. Die Beziehung zwischen beiden

Tabelle 2. *$CO_2$-Ausscheidung pro Zelle und pro Einheit Zelloberfläche*

| | Normal | Gigas | Dimension |
|---|---|---|---|
| Ausscheidung pro mm/² BF . . . . . | 2,84 | 2,10 | $10^{-4}$ mg $CO_2$/h |
| Mittlere Zellenzahl pro mm/² BF . . . . . | 1652 | 1013 | |
| Ausscheidung pro Zelle . . . . . | 1,72 | 2,07 | $10^{-9}$ mg $CO_2$/h |
| Mittlere Zelloberfläche . . . . . | 6643 | 13289 | rel. Einheiten |
| Ausscheidung pro Einheit Zelloberfläche . . . | 2,59<br>100 | 1,56<br>60,2 | rel. Einheiten<br>% |
| $O/V \cdot 100$ . . . . . | 19,9<br>100 | 15,1<br>75,9 | % |

kann dann als Kurve dargestellt werden (Abb. 2). Die durch Bezugnahme auf das Blattfrischgewicht und das Blatttrockengewicht gewonnenen Kurven haben annähernd den gleichen Verlauf, während die auf die Blattfläche bezogene Kurve etwas davon abweicht. Allgemein läßt sich auch hier wieder herauslesen, daß hohen Werten für die relative Zelloberfläche auch hohe Ausscheidungswerte entsprechen, und umgekehrt. Insbesondere gilt dies für den Bereich von $O/V = 23$ bis 15. Im übrigen aber zeigen alle drei Kurven, mehr oder weniger ausgeprägt, den Charakter von Optimumkurven. Das Maximum der Blattflächenkurve liegt etwas verschoben gegen die Blattfrischgewichts- und -trockengewichtskurven, die nur einen geringen Unterschied in der Lage des Maximums aufweisen. Bemerkenswert ist nun der deutliche Abfall der Kurven am linken Ende, also bei hohen relativen Oberflächenwerten. Ebenso auffällig ist die augenscheinliche Einstellung eines konstanten Niveaus am rechten Ende bei relativen Oberflächenwerten unter 17. Nun sind allerdings die Endpunkte der Kurven verständlicherweise wenig zuverlässig, da für die Extremwerte der Oberfläche natürlich nur wenige Meßwerte zur Verfügung standen. Der Kurvenverlauf kann daher nur zwischen $O/V = 13$ und 23 als einigermaßen gesichert angesehen werden. Hier werden die einzelnen Kurvenpunkte immerhin

durch je 11—17 Meßwerte dargestellt. Aus den Umständen, daß 1. die Blattflächenkurve innerhalb des gesicherten Bereiches ein deutliches Maximum zeigt, und 2. der linke Endpunkt bei vier Meßwerten doch ein deutliches Absinken erkennen läßt, das selbst bei Hinzunahme des sehr unsicheren folgenden Punktes zwischen 23 und 25, der nur durch zwei Meßwerte bestimmt wird, bestehenbleibt, läßt sich aber mindestens ein starkes Argument zugunsten einer Optimumkurve ableiten. Auch das

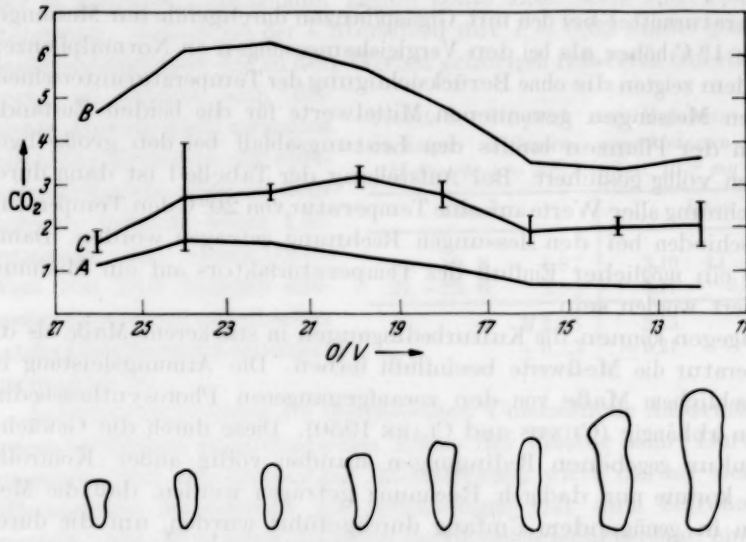


Abb. 2. Beziehung zwischen der $CO_2$-Ausscheidung und der relativen Oberfläche der Zellen. Kurve *A*: mg $CO_2$/h/g BFG. Kurve *B*: mg $CO_2$/h/g BTG. Kurve *C*: $10^{-3}$ mg $CO_2$/h/cm² BF. *O/V*: relative Oberfläche der Zellen. Die linke Ordinate gilt für Kurven *A* u. *C*, die rechte für Kurve *B*. In Kurve *C* sind die mittleren Fehlerbereiche für die einzelnen Kurvenpunkte eingetragen. Unter dem Kurvendiagramm sind für die jeweiligen relativen Oberflächenwerte repräsentative Zellen eingezeichnet (ca. 100 ×)

weitgehend konstante Niveau im Bereich zwischen $O/V = 13$ und 17, zumindest aber eine starke Minderung der abfallenden Tendenz der Kurven, scheint dadurch gesichert zu sein, daß die beiden in dem genannten Bereich liegenden Kurvenpunkte durch 17 bzw. 14 Meßwerte bestimmt sind.

Die Abweichung von einer einfachen linearen Proportionalität zwischen den Beziehungsgrößen dürfte jedenfalls darauf hinweisen, daß bei Veränderung der Zellgröße noch andere Faktoren als nur die Oberflächenänderung auf die Größe der $CO_2$-Ausscheidung Einfluß haben. Es kann vielleicht vermutet werden, daß Änderungen in den Geschwindigkeiten der Teilreaktionen des Kohlenhydratabbaus dafür verantwortlich sein könnten.

## Besprechung der Ergebnisse

Bei der Bewertung der gefundenen Meßunterschiede ist die Frage zu erörtern, ob diese Unterschiede wirklich nur durch die Zellgrößenänderung hervorgerufen worden sind, oder ob auch andere Faktoren daran beteiligt gewesen sein können. Weder die Messungen selbst, noch die vorbereitende Kultur der Pflanzen konnten unter völlig konstanten Bedingungen durchgeführt werden. Bei den Messungen ist hauptsächlich der Temperaturfaktor als Variable von Bedeutung. Insgesamt lag das Temperaturmittel bei den mit Gigaspflanzen durchgeführten Messungen um ca. 1° C höher als bei den Vergleichsmessungen an Normalpflanzen. Trotzdem zeigten die ohne Berücksichtigung der Temperaturunterschiede bei den Messungen gewonnenen Mittelwerte für die beiden Zustandsformen der Pflanzen bereits den Leistungsabfall bei den großzelligen Formen völlig gesichert. Bei Aufstellung der Tabelle 1 ist dann durch Umrechnung aller Werte auf eine Temperatur von 20° C den Temperaturunterschieden bei den Messungen Rechnung getragen worden. Damit dürfte ein möglicher Einfluß des Temperaturfaktors auf ein Minimum reduziert worden sein.

Dagegen können die Kulturbedingungen in stärkerem Maße als die Temperatur die Meßwerte beeinflußt haben. Die Atmungsleistung ist in erheblichem Maße von den voraufgegangenen Photosynthesebedingungen abhängig (CURTIS und CLARK 1950). Diese durch die Gewächshauskultur gegebenen Bedingungen standen völlig außer Kontrolle. Ihnen konnte nur dadurch Rechnung getragen werden, daß die Messungen in genügendem Umfang durchgeführt wurden, um die durch die Kultur bedingte Streuung für die Endbeurteilung unwirksam zu machen. Die statistische Bearbeitung des Materials zeigt, daß das der Fall ist. Die in Tabelle 1 wiedergegebenen Unterschiede liefern insofern sogar noch ein unklares Ergebnis, als einerseits unter den „Gigaswüchsigen" kleinzellige Pflanzen mit $O/V$-Werten von 20 bis 22, andererseits unter den „Normalwüchsigen" auch relativ großzellige Pflanzen mit $O/V$-Werten von 16 bis 18 enthalten sind. Die Unterschiede kommen schärfer heraus, wenn man unter Vernachlässigung der nur durch wenige Meßwerte bestimmten Extremwerte die Meßwerte der Kurvenbereiche von $O/V = 23$ bis 17 und 17 bis 13, die zusammen rund 90% aller Werte umfassen, einander gegenüberstellt. Die Kurven der Abb. 1 zeigen das Ergebnis graphisch, das in der Berechnung für die genannten Bereiche eine absolute statistische Sicherung der Unterschiede für alle drei Bezugsgrößen liefert.

Ferner könnte die beobachtete Änderung vielleicht ein Ausdruck des Alters der Pflanzen sein, derart, daß mit zunehmendem Alter die Atmungsleistung abnimmt. Um das zu prüfen, kann man bei den Normalpflanzen in jeder Meßreihe jeweils die drei ersten Wertegruppen

mit den drei letzten vergleichen. Da jede Wertegruppe aus zwei Werten besteht, ergibt das eine Gegenüberstellung von je 6 Werten in jeder Reihe, insgesamt also von je 12 frühen und 12 späten Werten. Zwischen frühen und späten Werten liegt im Durchschnitt ein Zeitraum von 19 Tagen. Das entspricht annähernd dem durchschnittlichen Zeitabstand zwischen erster und zweiter Messung an jeder Pflanze, nämlich 21 Tage. Tabelle 3 zeigt das Ergebnis.

Wie man sieht, kann von einer Leistungsabnahme innerhalb der hier in Betracht kommenden Zeiten keine Rede sein, eher von einer Steigerung. Jedoch ist der Unterschied mit $P = 0{,}026$ nicht gesichert. Berücksichtigt man die zu den Werten gehörigen relativen Oberflächenwerte, so erklärt sich der leichte Anstieg ganz zwanglos durch das Erreichen der optimalen Zellgröße. Der aus dem Rahmen fallende Wert 1,87 entspricht mit einem $O/V$-Wert von 24,9 dagegen eindeutig dem linken abfallenden Ast der Oberflächen/Leistungskurve (Abb. 2).

Tabelle 3. *Vergleich der Meßwerte normalwüchsiger Pflanzen verschiedenen Alters. Meßwerte pro BF-Einheit,* $10^{-2}$ *mg* $CO_2/h$

| Jünger | | Älter | |
|---|---|---|---|
| 14.—19. 3. | 1,87 | 3,10 | 11.—13. 4. |
| 21.—23. 6. | 2,84 | 3,17 | 3.—5. 7. |
| | *M* 2,35 | 3,13 | |
| | ± 0,25 | ±0,21 | |

Andererseits könnten die festgestellten Unterschiede Ausdruck eines unterschiedlichen physiologischen Alters der Blätter sein. Durch das Ausgeizen und die halbseitige Entblätterung wird das an sich ausdifferenzierte Blattgewebe zu Zellteilungen und zum Zellwachstum angeregt. Die Blattzellen erfahren im physiologischen Sinne eine Verjüngung (Mothes und Engelbrecht, 1956). Kann die Änderung der Leistung als Ausdruck dieser physiologischen Zustandsänderung der Blattzellen gewertet werden?

Auf keinen Fall kann eine *Abnahme* der Atmungsleistung in solchem Sinne gedeutet werden. Denn physiologisch jüngere Zellen haben *höhere* Atmungswerte als physiologisch alte. Das geht aus einer in Tabelle 4 dargestellten Versuchsreihe hervor. Die Pflanzen wurden zunächst völlig intakt gemessen. Dann wurde in üblicher Weise dekapitiert und ausgegeizt, wobei nur die allerjüngsten, noch im Wachstum begriffenen Blätter entfernt wurden. Von der angefallenen Blattmasse wurde in diesem Fall aus Zeitersparnisgründen nur das Trockengewicht bestimmt. Nach zwei Tagen wurde die Atmungsmessung wiederholt. Darauf und an den folgenden Tagen wurde jeweils nach Messung ein Bruchteil der Blattmasse entfernt. Die Blattstiele wurden an der Pflanze belassen. Die Differenzwerte der Messungen wurden auf die Trockengewichte der jeweils abgenommenen Blattmasse bezogen. Tabelle 4 gibt die Ergebnisse von 4 Meßreihen wieder.

Für einen zuverlässigen Vergleich der verschiedenen Pflanzenteile sind diese wenigen Messungen natürlich keineswegs ausreichend, aber eine Orientierung über die uns bewegende Frage erlauben sie immerhin. Jedenfalls ist daraus zu erkennen, daß die Atmungsleistung der Vegetationsspitzen und jungen Blätter weit höher liegt als bei älteren Blättern. Schon bei diesen wenigen Messungen ist der Unterschied mit $P < 0{,}0002$ völlig gesichert. Grundsätzlich besteht hierin Übereinstimmung mit Feststellungen z. B. von KIDD, WEST und BRIGGS (vgl. STILES, 1936, Tabelle XXXV). Es kann also keine Rede davon sein, daß die in unserem Fall festgestellte Leistungs*minderung* mit einer physiologischen *Verjüngung* der Blattzellen in Zusammenhang gebracht werden könnte. Vielmehr muß man zu dem Ergebnis kommen, daß *trotz* einer etwaigen Verjüngung der Zellen in dem Sinne, wie sie von MOTHES und ENGELBRECHT nachgewiesen wurde, eine Minderung der Atmungsleistung festzustellen ist, die dann jedenfalls andere Ursachen haben muß als gerade ein an sich leistungssteigernd wirkender Verjüngungsprozeß. Es wäre in diesem Zusammenhang von Interesse, wie sich die Atmungsleistung bewurzelter Blattstecklinge (MOTHES und ENGELBRECHT, 1956), die ähnliche anatomische Veränderungen aufweisen wie die Blätter unserer gigaswüchsig gewordenen Versuchspflanzen, im Vergleich zu normalen Blättern ändern würde.

Tabelle 4. *Atmungsleistung verschiedener Pflanzenorgane in* $\frac{mg/h}{g\,T\,G}$ *ausgeschiedenen* $CO_2$

| Vegetationsspitzen + junge Blätter | Ältere Blätter | Stengel |
|---|---|---|
| $12{,}2 \pm 1{,}56$ | $4{,}4 \pm 0{,}77$ | $1{,}1 \pm 0{,}08$ |

Die Operationen des Dekapitierens und der Entfernung von Blättern oder Blattteilen haben unmittelbar durchaus Einfluß auf die Atmungsleistung, wie aus entsprechenden Kontrollversuchen hervorgeht. Unmittelbar nach diesen Operationen ist ein Anstieg der $CO_2$-Ausscheidung zu verzeichnen, der jedoch im Laufe mehrerer Stunden abklingt, offenbar im Zusammenhang mit der Einstellung eines neuen physiologischen Gleichgewichts. Aus diesem Grunde wurde die Dekapitation stets einen Tag vor der Messung vollzogen. Daß die nachfolgende halbseitige Entblätterung als solche nicht für die Leistungsänderung verantwortlich gemacht werden kann, zeigt das Ergebnis eines Kontrollversuchs, in dem die in üblicher Weise einen Tag nach der Dekapitation gemessenen und halbseitig entblätterten Pflanzen 2 Tage später erneut gemessen wurden. In dieser kurzen Zwischenperiode kann noch keine wesentliche Änderung der Zellgröße und Zellenzahl erfolgt sein. Das Ergebnis ist in Tabelle 5 dargestellt.

Die Unterschiede sind mit $t$-Werten $< 1$ als Zufallsabweichungen zu bewerten. Ein Leistungsabfall ist also keinesfalls durch die Entblätterung als solche bedingt.

Tabelle 5. *Kontrollversuch: Wiederholung der Atmungsmessung zwei Tage nach halbseitiger Entblätterung. Mittel aus 4 Meßwerten*

| | mg $CO_2$/h / g BFG | mg $CO_2$/h / g BTG | $10^{-2}$ mg $CO_2$/h / cm² BF |
|---|---|---|---|
| Vor Entblätterung . . | 0,74 ± 0,13 | 5,82 ± 1,14 | 1,39 ± 0,24 |
| 2d nach Entblätterung | 0,83 ± 0,11 | 6,64 ± 0,67 | 1,51 ± 0,21 |

Eine schwer abzuschätzende Fehlermöglichkeit ist nun leider in den Ergebnissen noch enthalten. Die gemessenen $CO_2$-Ausscheidungen sind auf die Blätter bezogen worden. In den Meßwerten ist aber die Stengelatmung mit enthalten. Um über die Stengelatmung Aufschluß zu bekommen, wurde die $CO_2$-Ausscheidung entblätterter Pflanzen gemessen. Es war jedoch schwer zu beurteilen, wann die gefundenen Werte als normal anzusehen sind. Unmittelbar nach Entblätterung und z. T. auch noch bis zu 24 Stunden danach werden nämlich unverhältnismäßig hohe $CO_2$-Werte gefunden, die den Betrag der $CO_2$-Ausscheidung der ganzen intakten Pflanze erreichen und vielfach auch überschreiten können. Danach nimmt die Atmung anfangs allmählich, später rascher ab, bis mit Erschöpfung der oxydierbaren Substanzen die Atmungsleistung dem O-Wert zustrebt. Auf die Problematik dieses Vorgangs soll hier nicht näher eingegangen werden. Es bestand zunächst keine Möglichkeit zu beurteilen, welche Atmungsleistung in der abfallenden Kurve der Normalleistung des Stengels in der intakten Pflanze entsprechen könnte. Um zu versuchen, auf anderem Wege dennoch über die Stengelatmung einigen Aufschluß zu bekommen, wurden die oben bereits angeführten Messungen mit stufenweiser Entblätterung durchgeführt. Obgleich die in Tabelle 4 wiedergegebenen Ergebnisse nur auf Messungen an vier Pflanzen beruhen, kann doch angenommen werden, daß die gefundenen Zahlenverhältnisse annähernd richtig sind. Danach würde die Stengelatmung rund 25% der Blattatmung ausmachen. Für eine wirklich zuverlässige Beurteilung des Verhältnisses von Stengelatmung zu Blattatmung und daher für eine Anwendung auf unsere Versuchsergebnisse ist das hierfür vorliegende Material aber noch entschieden zu wenig umfangreich. Immerhin würde der gefundene Anteil der Stengelatmung gut übereinstimmen mit einem bei *Helianthus* gefundenen Wert von 26,1% (Kidd, West and Briggs, vgl. Stiles, 1936, Tabelle XXXV). Danach müßten die an den Normalpflanzen gewonnenen Meßwerte alle um 25% verkleinert werden, um die Werte für die reine Blattatmung zu bekommen. Angenommen, das sei richtig, so bleibt als Unbekannte in der Überlegung, daß aus den bisherigen Daten nicht zu erschließen ist, wie sich bei den gigaswüchsigen Pflanzen das Verhältnis Blattatmung zu Stengelatmung etwa verschoben haben könnte. Günstigstenfalls kann es unverändert geblieben sein. Dann ist

es für die Beurteilung der gefundenen Unterschiede ohne Gewicht. Andererseits ist es aber auch möglich, daß eine Verschiebung eingetreten ist, die sich auf das Endergebnis auswirken könnte. Im ungünstigsten Fall könnte eine Abnahme der relativen Stengelatmung um etwa 4%, gleichbedeutend mit einer absoluten Abnahme um 16%, die statistische Sicherung der in Tabelle 1 aufgezeigten Unterschiede in Frage stellen. Mit einer derart drastischen Änderung des Verhältnisses von Stengelatmung zu Blattatmung braucht aber wohl kaum gerechnet zu werden. Mit dieser Unsicherheit behaftet können die auf die Blätter bezogenen Unterschiede der Meßwerte wohl als gültig angesehen werden.

Tabelle 6. *Die 1 mm² Blattoberfläche entsprechenden Mesophyll[1]-Volumen- und -Oberflächenverhältnisse*

| | Normal | Gigas | Änderung % |
|---|---|---|---|
| Palisadenzellenoberfläche, gesamt . . . | $11{,}7 \times 10^6\ \mu^2$ | $14{,}4 \times 10^6\ \mu^2$ | +23 |
| Palisadenzellenvolumen, gesamt . . . | $50 \times 10^6\ \mu^3$ | $81 \times 10^6\ \mu^3$ | +62 |
| $O/V \cdot 100$ . . . . . | 23,4 | 17,8 | −24 |
| Mesophyllvolumen[1] . . . . . | $86 \times 10^6\ \mu^3$ | $141 \times 10^6\ \mu^3$ | +64 |
| Zellvolumen: Mesophyllvolumen . . . | 58 | 57 | − 2 |
| Intercellularvolumen . . . . . | $36 \times 10^6\ \mu^3$ | $60 \times 10^6\ \mu^3$ | +67 |
| Zelloberfläche: Intercellularvolumen . | 33 | 24 | −27 |

[1] Unter Mesophyll ist hier nur der durch das Palisadenparenchym repräsentierte Anteil zu verstehen.

Schließlich ist die Frage zu prüfen, wieweit eine Änderung der inneren Volumen- und Oberflächenverhältnisse des Blattgewebes eine Erklärung für die beobachtete Leistungsänderung abgeben kann. Aus Zellenzahl pro mm², dem mittleren Zellvolumen, den mittleren Zelllängen und dem linearen Vergrößerungsfaktor, mit dem die Zellumrisse gezeichnet wurden (968×), lassen sich die erforderlichen Größen berechnen (Tabelle 6).

Bemerkenswert ist, daß sich das Verhältnis des Gesamtzellvolumens zum Gewebevolumen praktisch kaum geändert hat (−2%). Das bedeutet zugleich, daß der relative Anteil des Intercellularvolumens unverändert geblieben ist. In diesem Punkt unterscheidet sich der künstliche Gigascharakter unserer Pflanzen vom Gigascharakter mancher Polyploider, die eine Abnahme des Intercellularvolumens pro Gewebevolumeneinheit erkennen lassen (SCHWANITZ, 1949). Dagegen ist die relative Oberfläche der Zellen sowohl im Verhältnis zum eigenen Volumen als auch gegenüber dem Intercellularvolumen verringert.

Aus diesen veränderten Volumen- und Oberflächengegebenheiten kann jedoch vom rein physikalischen Standpunkt keine Änderung der

$CO_2$-Abgabe aus dem Gewebe hergeleitet werden. Eine pro Zeiteinheit ausgeschiedene Menge eines Gases muß unabhängig von den Volumen- und Oberflächenverhältnissen des ausscheidenden Systems in unverändertem Betrage meßbar sein, solange die Ausscheidung konstant bleibt. Auch eine Änderung der Zahl der Spaltöffnungen pro Flächeneinheit kann nicht von Einfluß sein. Eine Änderung der genannten Größen wird lediglich eine Änderung der Strömungsgeschwindigkeit, aber keine Änderung der absoluten Menge des ausgeschiedenen Gases zur Folge haben können. Die eben berührte Frage der Änderung der Zahl der Spaltöffnungen ist im Zuge der durchgeführten Untersuchungen nicht verfolgt worden. Es ist jedoch anzunehmen, daß die Spaltöffnungszahl pro Flächeneinheit infolge des Wachstums auch der Epidermiszellen verringert sein wird. Unter Berücksichtigung des bei Verdunkelung wahrscheinlich eintretenden Verschlusses der Spaltöffnungen (Freudenberger 1940) werden diese ohnehin für die $CO_2$-Ausscheidung nur mehr eine untergeordnete Rolle spielen können und die Ausscheidung im wesentlichen durch die Epidermis erfolgen müssen. Nachdem eine Sättigung des Gewebes, einschließlich des Intercellularraums, eingetreten ist, muß die den Sättigungsgrad überschreitende, laufend produzierte $CO_2$-Menge auf dem Diffusionsweg ausgeschieden werden. Unterschiede in der Messung der ausgeschiedenen Mengen können dann also nur auf Unterschiede in der $CO_2$-Produktion des Gewebes zurückgeführt werden.

Im Zusammenhang mit den anatomischen Veränderungen im Innern der gigaswüchsig gewordenen Blätter ist jedoch auch die Frage von Bedeutung, wieweit eine unterschiedliche $CO_2$-Retention[1] des Gewebes bei den beobachteten Unterschieden mitgewirkt haben könnte. Nach Untersuchungen von Denny (1946) werden im Gewebe von Kartoffelknollen bei 20° C nach Einstellung eines Gleichgewichts 32% des durch Atmung produzierten $CO_2$ festgehalten. Obgleich die Ergebnisse Dennys an Knollen, Rüben und Früchten gewonnen wurden und daher nicht ohne weiteres auf Blattgewebe übertragen werden können, soll orientierungshalber auf dieser Grundlage eine Kalkulation angestellt werden. Unter der Voraussetzung, daß die $CO_2$-Retention im Gewebe der normalen Blätter 35% des im Atmungsprozeß produzierten $CO_2$ betrage, würde die bei den Normalpflanzen pro Einheit Blattfläche ausgeschiedene Menge $CO_2$/h im Betrage von $2{,}84 \cdot 10^{-2}$ mg (Tabelle 1) nur 65% der insgesamt produzierten Menge ausmachen. Die tatsächlich produzierte Menge $CO_2$ würde dann $4{,}37 \cdot 10^{-2}$ mg/h betragen. Nimmt man weiter an, daß bei den gigaswüchsig gewordenen Pflanzen die Atmung proportional mit der Zunahme der Zelloberfläche pro Einheit

[1] *Retention* wurde der sonst zu findenden Schreibweise *Retension* vorgezogen, da *retentio* das Zurückhalten, *tensio* dagegen Spannung bedeutet.

Blattfläche ansteigt, so ergibt sich bei Zunahme der Zelloberfläche um 23% (Tabelle 6) eine Steigerung der $CO_2$-Produktion pro Einheit Blattfläche von 4,37 auf $5{,}37 \cdot 10^{-2}$ mg/h. Würde die $CO_2$-Retention unverändert 35% betragen, so ergäbe sich eine $CO_2$-Ausscheidung von $3{,}49 \cdot 10^{-2}$ mg/h, d. h. eine Steigerung gegenüber der Normalpflanze. Dieser Fall kann also ausgeschlossen werden. Zugleich weist die Überlegung aber darauf hin, daß aus einer Steigerung der $CO_2$-Ausscheidung noch nicht ohne weiteres auf eine Verjüngung des Gewebes und damit verbundener Steigerung der Stoffwechselintensität hätte geschlossen werden dürfen. Setzt man hingegen weiter voraus, daß die $CO_2$-Retention des Gewebes proportional mit dem der Einheit Blattfläche entsprechenden Zellvolumen wächst, so ergibt sich bei einer Zunahme des Zellvolumens pro Einheit Blattfläche um 62% in den Gigaspflanzen (Tabelle 6) eine Steigerung der $CO_2$-Retention auf 57%. Wenn dann die infolge der Oberflächenzunahme auf $5{,}37 \cdot 10^{-2}$ mg/h gesteigerte $CO_2$-Produktion richtig ist, ergibt sich bei der genannten Retention von 57% eine Ausscheidung von $2{,}31 \cdot 10^{-2}$ mg/h. Man gelangt nach dieser Überlegung also zu einer Verminderung der $CO_2$-Ausscheidung, wie sie tatsächlich gefunden wurde, wenn auch nicht von genau gleicher Größe. Dafür sind die der Kalkulation zugrunde gelegten Voraussetzungen zu unsicher. Das Ergebnis zeigt aber, daß sie durchaus annähernd richtig sein könnten. Es ist schon bemerkenswert genug, daß man mit dieser Überlegung zu einem Wert kommt, der dem tatsächlich gemessenen recht naheliegt. Die Feststellung eindeutiger Unterschiede in der $CO_2$-Ausscheidung ist also möglich, ohne daß sich an der Intensität der das $CO_2$ produzierenden Stoffwechselvorgänge Wesentliches geändert zu haben braucht.

Die soeben diskutierte Deutungsmöglichkeit gilt allerdings nur unter der Voraussetzung, daß unter $CO_2$-Retention im Gewebe nicht nur Speicherung von $CO_2$ im Zellsaft bis zur Sättigung verstanden wird, sondern zugleich auch kontinuierliche Rückführung des $CO_2$ in den Stoffwechsel, so daß laufend ein bestimmter Prozentsatz des durch Atmung erzeugten $CO_2$ wieder im Stoffwechsel verbraucht und daher nicht ausgeschieden wird. Dergleichen ist bekannt geworden als $CO_2$-Fixierung im tierischen Gewebe (KREBS 1951) und bei Sukkulenten (THOMAS 1951). Die $CO_2$-Fixierung geht dabei unter Bildung organischer Säuren vonstatten (OCHOA 1951, THOMAS 1951), so daß in der Dunkelheit der Säuregehalt der Gewebe ansteigt. Das geht aber auch bei solchen sukkulenten Pflanzen mit einem ausgeprägten Säurestoffwechsel (Kakteen, Crassulaceen u. a.) nicht unbegrenzt weiter, sondern nur bis zu einem gewissen Sättigungszustand, der nach bisherigem Wissen nach etwa 18 Std erreicht wird (NUERNBERGK 1955, 1957). Weiteres durch Atmung erzeugtes $CO_2$ kann dann nicht mehr gespeichert

werden, sondern wird ausgeschieden. Nun sind zunächst einmal durchaus nicht alle sukkulenten Pflanzen zur Säurebildung und -speicherung im Dunkeln befähigt (NUERNBERGK 1957). In unserem besonderen Fall ist ferner die Tomate keine sukkulente Pflanze und auch die experimentell hervorgerufene Sukkulenz kann kaum eine Rolle spielen, außer der, daß nach Verdunkelung etwas längere Zeit bis zur völligen Sättigung des Gewebes mit *gelöstem* $CO_2$ infolge des erhöhten Wassergehaltes verstreichen wird. Von einer $CO_2$-Retention im oben besprochenen Sinne kann hier sicherlich keine Rede sein. Die tatsächlich ausgeschiedene und als solche gemessene $CO_2$-Menge kann also in unserem Fall, unter gewissen, weiter oben besprochenen Vorbehalten, als ein Maß für die wirklich durch Atmung produzierte Menge $CO_2$ angesehen werden.

Trotz mancher offener Fragen, die weitere Nachprüfungen erfordern, führen alle bisherigen Überlegungen zu dem Ergebnis, daß andere Deutungen vorerst zumindest eine geringere Wahrscheinlichkeit haben als die, die Unterschiede in den ausgeschiedenen $CO_2$-Mengen auf Unterschiede in den Zellgrößen und die dadurch bedingte Änderung der relativen Oberfläche zurückzuführen. Im Anschluß daran kann auf zellphysiologische Konsequenzen hingewiesen werden, die mit zur Prüfung der bisherigen Schlußfolgerungen herangezogen werden können.

Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, daß die Abnahme der $CO_2$-Ausscheidung auch als eine geringere Atmungsleistung pro Einheit Zelloberfläche verstanden werden kann. Daraus lassen sich Vorstellungen ableiten, die weiterverfolgt werden können. So könnte eine Änderung des Kohlehydratgehaltes in den Blättern von Bedeutung sein. Nach den Vorstellungen von SCHWANITZ (1953) müßte er in den großzelligen, gigaswüchsigen Blättern kleiner sein als in den kleinzelligen normalen. Im Widerspruch dazu wird aber in den Blättern von tetraploiden, großzelligen Pflanzen vielfach ein höherer Zuckergehalt gefunden als in den entsprechenden diploiden, kleinzelligen (EKDAHL, 1944; SULLIVAN u. MYERS, 1939). Hier sind weitere Untersuchungen erforderlich. Ferner besteht die Möglichkeit, daß die Geschwindigkeit der Atmungsprozesse durch Verminderung der dafür pro Zelloberflächeneinheit erforderlichen Fermente herabgesetzt sein kann. Da die wichtigsten Atmungsfermente in den Chondriosomen lokalisiert sind (DUSPIVA, 1956; MILLERD, 1956), würde das auf eine Verminderung der Chondriosomenzahl pro Zelloberflächeneinheit hinauslaufen.

## Zusammenfassung

Die $CO_2$-Ausscheidung normalwüchsiger Tomatenpflanzen (*Lycopersicum pimpinellifolium* Mill.) wurde mit der $CO_2$-Ausscheidung derselben Pflanzen nach experimentell induziertem Gigaswuchs verglichen. Als Gigasmerkmale waren in den veränderten Pflanzen zu erkennen:

Sukkulenz der Blätter, bedingt durch Vergrößerung der Blattzellen und Zunahme des Wassergehalts der Zellen. Die $CO_2$-Messung wurde mit dem URAS durchgeführt. Die Messungen lieferten folgende Ergebnisse und Schlußfolgerungen.

1. Die pro Zeiteinheit ausgeschiedenen $CO_2$-Mengen waren bei den Pflanzen mit vergrößerten Zellen statistisch gesichert kleiner als bei den Normalpflanzen mit kleineren Zellen.

2. Bei Anordnung der Meßwerte in Beziehung zu den entsprechenden Werten für die relative Oberfläche der Zellen erhält man eine Kurve, die ihrem Verlauf nach wahrscheinlich eine Optimumkurve ist, d. h. es besteht eine für die $CO_2$-Ausscheidung optimale Zellgröße. Bei Überschreitung dieser optimalen Zellgröße nehmen die $CO_2$-Werte proportional der Verminderung der relativen Oberfläche der Zellen ab.

3. Alle Überlegungen, wie die gefundenen Unterschiede zu deuten sind, führen zu dem Ergebnis, daß trotz mancher noch offener Fragen zumindest eine große Wahrscheinlichkeit dafür besteht, daß sie letzten Endes auf die Zellgrößenänderung zurückzuführen sind. Die sich daraus ergebenden, experimentell prüfbaren zellphysiologischen Folgerungen werden erörtert.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei gedankt für die Bereitstellung von Mitteln zur Durchführung der Untersuchungen.

## Literatur

CURTIS, O. F., and D. G. CLARK: An introduction to plant physiology. New York 1950. — DENNY, F. E.: Accumulation of carbon dioxide in potato tuber tissue under conditions for the continuous removal of the exhaled gas. Contrib. Boyce Thomson Inst. **14**, 315—322 (1946). — DUSPIVA, F.: Die Mitwirkung von Enzymen im Zellstoffwechsel. Konstitution, Kinetik und cytochemische Grundlagen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. II, S. 489—542. — EKDAHL, J.: Comparative studies in physiology of diploid and tetraploid barley. Ark. Bot. (Stockh.) A **31**, 1—45 (1944). — JAMES, W. O.: Plant respiration. Oxford 1953. — LARSEN, P.: The aspects of polyploidy in the genus Solanum. — 2. Production of dry matter, rate of photosynthesis and respiration and development of leaf area in some diploid Solanums. Biol. Med. danske Vidensk. Selsk. **18**, I (1943). — MILLERD, A.: Mitochondria and microsomes. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. II, S. 573—583. 1956. — MOTHES, K., u. L. ENGELBRECHT: Über den Stickstoffumsatz in Blattstecklingen. Flora (Jena) **143**, 428—472 (1956). — NUERNBERGK, E. L.: Zur Technik der vergleichenden Messung der Photosynthese mittels des URAS und ihre Anwendung auf die Untersuchung periodischer Photosynthese-Kurven. Gartenbauwiss. **2** (20), 58—91 (1955). — PÄTAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. (Eine neue t-Tafel.) Biol. Zbl. **63**, 152—168 (1943). — PIRSCHLE, K.: Quantitative Untersuchungen über Wachstum und „Ertrag" autopolyploider Pflanzen. Z. Vererbungslehre **80**, 126—156 (1942). — Weitere Untersuchungen über Wachstum und „Ertrag" von Autopolyploiden (2n, 3n, 4n) und ihren Bastarden. Z. Vererbungslehre **80**, 247—270 (1942). — SCHLÖSSER, L. A.: Physiologische Untersuchungen an polyploiden Pflanzenreihen. Forschungsdienst **10**, 28—40 (1940). — SCHWANITZ, F.: Untersuchungen an

polyploiden Pflanzen. IV. Zum Wasserhaushalt diploider und polyploider Pflanzen. Züchter **19**, 221—232 (1949). — Untersuchungen an polyploiden Pflanzen. VII. Zur Atmung diploider und autotetraploider Pflanzen. Züchter **20**, 76—81 (1950). — Untersuchungen an polyploiden Pflanzen. XII. Der Gigascharakter der Kulturpflanzen und seine Bedeutung für die Polyploidiezüchtung. Züchter **21**, 65—75 (1951). — Die Zellgröße als der entscheidende Faktor für die Entstehung der verschiedenen Sortengruppen beim Kulturlein (Linum usitatissimum L.). Naturwiss. **38**, 44—45 (1951). — Die Zellgröße als Grundelement in Phylogenese und Ontogenese. Züchter **23**, 17—44 (1953). — Schwanitz, F., u. W. Schenk: Zur Atmung diploider Gigaspflanzen. Naturwiss. **41**, 262 (1954). — Ståelfelt, M. G.: Kohlensäureassimilation und Atmung von großwüchsigen Polyploiden. Ark. Bot. (Stockh.) A **30**, 1—13 (1943). — Stiles, W.: An introduction to the principles of plant physiology. London 1936. — Sullivan, J. T., and W. M. Myers: Chemical composition of diploid and tetraploid Lolium perenne L. J. Amer. Soc. Agronom. **31**, 869—971 (1939). — Tischler, G.: Allgemeine Pflanzenkaryologie, 2. Aufl. Erg.bd.: Angewandte Pflanzenkaryologie. In Handbuch der Pflanzenanatomie, Bd. II. 1953/54. — Weber, E.: Grundriß der biologischen Statistik. Jena: Fischer 1956.

**Literaturnachtrag.** Freudenberger, H.: Die Reaktion der Schließzellen auf Kohlensäure und Sauerstoffentzug. Protoplasma (Wien) **35**, 15—54 (1940). — Krebs, H. A.: Carbon dioxide fixation in animal tissues. Symposia Soc. Exper. Biol. **5**, 1—8 (1951). — Nuernbergk, E. L.: Über den zeitlichen Verlauf der Photosynthese bei Gewächshauspflanzen. Gartenbauwiss. **1** (19), 391—398 (1955). Weitere Beiträge zum Kohlendioxyd-Stoffwechsel von Pflanzen mit diurnalem Säurerhythmus und von Lang- und Kurztagpflanzen. Mitt. Staatsinst. allg. Bot. Hamburg **11**, 205—232 (1957). — Ochoa, S.: Biosynthesis of dicarboxylic and tricarboxylic acids by carbon dioxide fixation. Symposia Soc. Exper. Biol. **5**, 29—51 (1951). — Thomas, M.: Carbon dioxide fixation and acid synthesis in Crassulacean acid metabolism. Symposia Soc. Exper. Biol. **5**, 72—93 (1951).

Priv.-Doz. Dr. Franz Brabec, Staatsinstitut für Allgemeine Botanik, Hamburg 36, Jungiusstr. 6

Planta, Bd. 50, S. 640—670 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

# DIE CHROMOPLASTEN VON SOLANUM CAPSICASTRUM L. UND IHRE GENESE

## ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR PLASTIDENMETAMORPHOSE

Von

KURT STEFFEN und FRIEDRICH WALTER*

Mit 11 Textabbildungen

*(Eingegangen am 22. September 1957)*

## Einleitung

Während die Chloroplasten und ihre Genese aus Proplastiden in neuester Zeit Gegenstand zahlreicher licht- und elektronenmikroskopischer Untersuchungen waren (zusammenfassende Berichte von STRUGGER 1951, WEIER und STOCKING 1952, FREY-WYSSLING 1953, 1955a und GRANICK 1955, v. WETTSTEIN 1957a u. b), ist über die Feinstruktur der Chromoplasten so gut wie nichts und über die Entstehung der Chromoplasten wenig Neues bekannt geworden (vgl. auch MÜHLETHALER 1956, 1957a und b). Von STRAUS (1953) liegt zwar ein Sammelreferat über Chromoplasten vor, doch sind die darin geäußerten Theorien wenig fundiert und halten keiner ernsthaften cytologischen Nachprüfung stand. Der kritische Leser wird darum zu seiner Orientierung immer wieder auf die nun schon klassisch zu nennenden Arbeiten von A. MEYER (1883a u. b, 1926), SCHIMPER (1883a u. b, 1885), COURCHET (1888), ROTHERT (1912, 1914), GUILLIERMOND (1919) und auf die neuere Arbeit von ZURZYCKI (1954) zurückgreifen.

Da die Chromoplasten der Spermatophyten in ihren Formen mannigfaltiger als die übrigen Plastiden sind, hat es nicht an Versuchen gefehlt, den Formenreichtum zu ordnen (zuletzt ZURZYCKI 1954). Diesen Typisierungsversuchen liegen als wesentliche Einteilungsprinzipien die Umrißformen der Plastiden sowie die Verteilung und der Aggregatzustand des Farbstoffes innerhalb der Plastiden zugrunde. Kombiniert und vereinfacht man die von MEYER, SCHIMPER, COURCHET und ZURZYCKI aufgestellten Typen, so lassen sich drei Gruppen unterscheiden: mehr oder minder ellipsoidische Formen, die die Carotinoide in verschieden großen, und darum auch unterschiedlich gut sichtbaren Granula führen; spindelige bis polyedrische Formen, die je nach ihrer Größe mehr oder minder gut als Binnenstruktur eine Streifung erkennen lassen, und

* Die in der vorliegenden Arbeit mitgeteilten Ergebnisse sind aus der Dissertation des zweiten Verfassers entnommen.

schließlich Chromatophoren, deren Form durch die gebildeten Carotinkristalle bedingt ist und die darum auch in ihren Formen besonders mannigfaltig sind (Rhomben, Nadeln, Spiralen usw.).

Durch die Einführung des entwicklungsgeschichtlichen Moments in die Betrachtungsweise ergibt sich ein neuer Gesichtspunkt und zu gleicher Zeit eine wesentliche Komplikation. Bei der Ontogenese der Spermatophytenplastiden lassen sich zwei Stufen, die embryonale (Proplastiden) und die somatische unterscheiden, wie wir aus den Untersuchungen STRUGGERS wissen. Durch neuere Untersuchungen (STEFFEN, unveröffentlicht), die an GUILLIERMOND (1919) anknüpfen, sind nun Chromoplasten bekannt geworden, die Zeit ihres Lebens auf der embryonalen Stufe verharren. Diese amoeboid beweglichen Formen mit wenigen Farbstoffgranula in oft homogen gefärbtem oder farblosem Stroma wären als vierter Chromoplastentyp den drei früher bekannt gewordenen anzuschließen. Sekundär können diese Proplastiden durch Kristallbildung in ihrer Umrißform verändert werden, so daß aus ihnen der dritte, klassische Chromoplastentyp entsteht.

Die Chromoplasten der somatischen Stufe können entweder auf dem Wege der Ontogenese aus Proplastiden oder durch Metamorphose aus Chloroplasten entstehen (STEFFEN, unveröffentlicht). In lezterem Fall werden Chromoplasten des 1. und 2. Typs gebildet. Von grundsätzlicher Bedeutung ist die Tatsache, daß Plastiden desselben morphologischen Typs auf unterschiedlichem Wege, durch Metamorphose oder ontogenetisch aus Proplastiden, entstehen können.

Die Verfasser sind der Auffassung, daß man aus didaktischen Gründen zunächst zwischen einer Ontogenese (= Entwicklungsmetamorphose nach STRUGGER) und einer Metamorphose unterscheiden sollte. Während bei der ontogenetischen Entwicklung embryonale Formen in somatische übergehen, werden bei der Metamorphose Dauerformen in eine andere, durch den Pigmentgehalt definierte (SCHIMPER 1885, S. 25) Plastidengruppe überführt. Dabei dürfte es prinzipiell gleichgültig sein, ob diese Dauerformen embryonalen oder somatischen Charakter haben. Sieht man jedoch den Strukturwechsel als Kriterium für die Metamorphose an, so wird man auch den ontogenetischen Strukturwechsel unter den Oberbegriff der Metamorphose rechnen müssen.

Es soll an dieser Stelle nicht darüber diskutiert werden, ob Metamorphosen reversibel sein können (vgl. FREY-WYSSLING, RUCH u. BERGER 1956) und ob sich somatische Formen wieder in embryonale verwandeln können. Dies sind wichtige Fragen, die, solange wenig über die Genese und nichts über die Feinstruktur der Chromoplasten bekannt ist [die unkritische Arbeit von ROBERTS u. SOUTHWICK (1948) bedarf kaum der Erwähnung], zurückgestellt werden müssen.

Um zunächst einmal in den vielschichtigen Komplex einzudringen, führten wir anfangs orientierende submikroskopische Untersuchungen an den drei klassischen Chromoplastentypen aus. Nachdem in *Solanum capsicastrum* ein günstiges Objekt gefunden war, begannen wir mit der Untersuchung der Metamorphose von Chloro- zu Chromoplasten. Unser

Ziel war es, anknüpfend an die bekannte submikroskopische Struktur der Chloroplasten den Strukturwechsel bei dieser Metamorphose zu klären, wohl wissend, daß damit nur einer der möglichen Wege in der Chromoplastengenese untersucht wurde.

## Eigene Untersuchungen

### A. Technik

#### *I. Lichtmikroskopische Untersuchungen*

Bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen wurde besonderer Wert darauf gelegt, die Objekte im isotonischen Medium zu untersuchen und Präparationsartefakte nach Möglichkeit auszuschließen. Zum Erkennen von Feinstrukturen und damit zur lichtoptischen Kontrolle der elektronenmikroskopischen Befunde wurde das Polarisationsmikroskop verwendet (SCHMIDT 1934, 1951, SAVELLI 1937, 1938a—c).

Für die lichtoptischen Untersuchungen wurde das Ortholux-Mikroskop von Leitz mit Phasenkontrasteinrichtung, sowie in seiner Spezialausführung als Polarisationsmikroskop (Ortholux-Biopol) benutzt. Zur Verwendung kamen bei der Hellfeldmikroskopie der Leitz-Apochromat 2 mm 90:1, n.A. 1,32 und der Zweiblenden-Hellfeldkondensator nach BEREK bzw. ein dreilinsiger Kondensor (Kondensor 96, Apert. 1,40), bei der Phasenkontrastuntersuchung das Leitz-Objektiv 1/10 Fl 70:1, n. A. 1,15 und der Phasenkondensor nach HEINE (GOTTSCHEWSKI 1953). Polarisationsoptische Untersuchungen wurden meist unter Verwendung spannungsfreier Optik (Leitz-Achromat P 45:1, n. A. 0,65) vorgenommen. Als Lichtquellen dienten wechselweise die Leitz-Niedervoltlampe Monla und die Philips-Quecksilberhöchstdrucklampe CS 150 der Leitzschen Fluorescenzeinrichtung. Für die Messungen am lebenden Objekt wurde das Schrauben-Okularmikrometer von Leitz benutzt. Bei Mikroaufnahmen wurde ein strenges Grünfilter ($\lambda = 547$ m$\mu$) mit geringer Bandbreite (110 Å) zwischen Lichtquelle und Mikroskop-Kondensor eingeschaltet. Die Aufnahmen wurden entweder mit der LEICA in Verbindung mit der Aufsatzkamera MIKAS auf ADOX KB 14-Kleinbildfilm oder mit der Plattenkamera MAKAM auf panchromatisches Plattenmaterial (PERUTZ-Perchromo) hergestellt.

#### *II. Elektronenmikroskopische Untersuchungen*

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden die Objekte mit Vernonal-Acetat gepufferter 1%iger $OsO_4$-Lösung unter Zusatz von 0,15 mol Saccharose bei 0—2° fixiert und auf die übliche Weise in Methacrylatgemisch (8 Teile Butyl-Methacrylat und 2 Teile Methyl-Methacrylat) unter Zugabe von 2% 2,4-Dichlorbenzoylperoxyd eingebettet. Geschnitten wurden sie mit einem von dem zweiten Verfasser modifizierten und mit thermischem Vorschub versehenen Minot-Mikrotom, wobei eine Schnittdicke von 300—500 Å erzielt wurde (ausführliche Beschreibung bei WALTER 1957). Die Dünnschnitte wurden auf mit Formvarfolien beschickten Platinblenden aufgezogen und ohne Herauslösen des Einbettungsmittels im Siemens-Übermikroskop (ÜM 100b) bei 80 und 60 KV Strahlspannung betrachtet. Die Aufnahmen erfolgten mit Ausnahme von Abb. 6 (11400fach) bei 5700facher Vergrößerung auf Kranz-Repro-Platten. Messungen wurden an 5- bis 6fachen Vergrößerungen mit Hilfe einer 10fachen Meßlupe vorgenommen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei auch an dieser Stelle für das der Universität Marburg zur Verfügung gestellte Elektronenmikroskop und Herrn Dr. VOGELL für seine Ratschläge bei der Benutzung des Gerätes gedankt.

## B. Beobachtungen

### *1. Voruntersuchungen an den drei klassischen Chromoplastentypen*

Zur submikroskopischen Analyse der drei klassischen Chromoplastentypen wurden Objekte ausgewählt, die auf Grund der Literaturangaben und unserer lichtoptischen Untersuchungen für spätere entwicklungsgeschichtliche und experimentelle Studien besonders geeignet erschienen.

1. Typ. Mehr oder minder ellipsoidische Chromoplasten mit Pigment in granulären Einschlüssen: *Aloe plicatilis*, Perigon.

Die Plastiden der *Aloe*-Arten werden in der Literatur häufig als Beispiele für Plastidenmetamorphosen und Zwischenstadien genannt (Schimper 1885, Courchet 1888, Molisch 1902, Rothert 1912, 1914, Savelli 1938b). So sollen nach Savelli (1938b) in jungen Blättern zunächst Chromoplasten vorkommen, die später in Chloroplasten übergehen. In älteren Blättern treten bei intensiver Beleuchtung und günstiger Temperatur (Molisch 1902, Savelli 1938b) reversibel Intermediärplastiden (nach Rothert = „Chlorochromoplasten", nach Savelli = „Chloroplasti cromici" der italienischen Literatur) auf, welche die roten Pigmente in granulären Ansammlungen im grünen Stroma zeigen. Im inneren, chlorophyllfreien Blattgewebe sollen Leukoplasten direkt in Chromoplasten übergehen können (Molisch 1902, Rothert 1912). — Für unsere Untersuchungen wählten wir das Perigon von *Aloe plicatilis*, das wegen der gut definierbaren, aufeinanderfolgenden Zonen zum Studium der Metamorphose von Chloro- zu Chromoplasten besonders geeignet ist. Im elektronenmikroskopischen Bild (Abb. 1a) treten im Parenchym der Übergangszone Zwischenformen (links und rechts im Bild) und fertige Chromoplasten (Mitte) auf. Während in den Übergangsformen noch Reste der Lamellenstruktur zu erkennen sind, ist in dem mittleren Chromoplasten die Lamellenstruktur bis auf einen geringen, rechts von der Stärkevacuole sichtbaren Rest resorbiert worden. Das Vorkommen von Stärke in Chromoplasten (mittlere und linke Plastide) ist keine Besonderheit und in der Literatur häufig, z. T. bei *Tropaeolum*, *Azalea flava* und *Lilium pomponium*, beschrieben worden. Charakteristisch für diese Chromoplasten ist das Auftreten von osmiumgeschwärzten Granula in bevorzugt peripherer Lage. Diese Granula dürften größenordnungsmäßig z. T. den im Leben beobachteten Pigmentgranula entsprechen. Sie könnten jedoch z. T. auch bei der Präparation als Entmischungsartefakt entstanden sein (Frey-Wyssling 1955a und b). Solche Entmischungsartefakte werden sich wohl vorerst kaum mit Sicherheit ausschließen lassen. Beachtenswert ist die in allen Plastiden gut sichtbare Plastidenmembran und das relativ breite, lamellenfreie Peristromium der Übergangsformen, das die Amoeboidie dieser Formen verständlich erscheinen läßt (vgl. Strugger 1956). Ob und wieweit

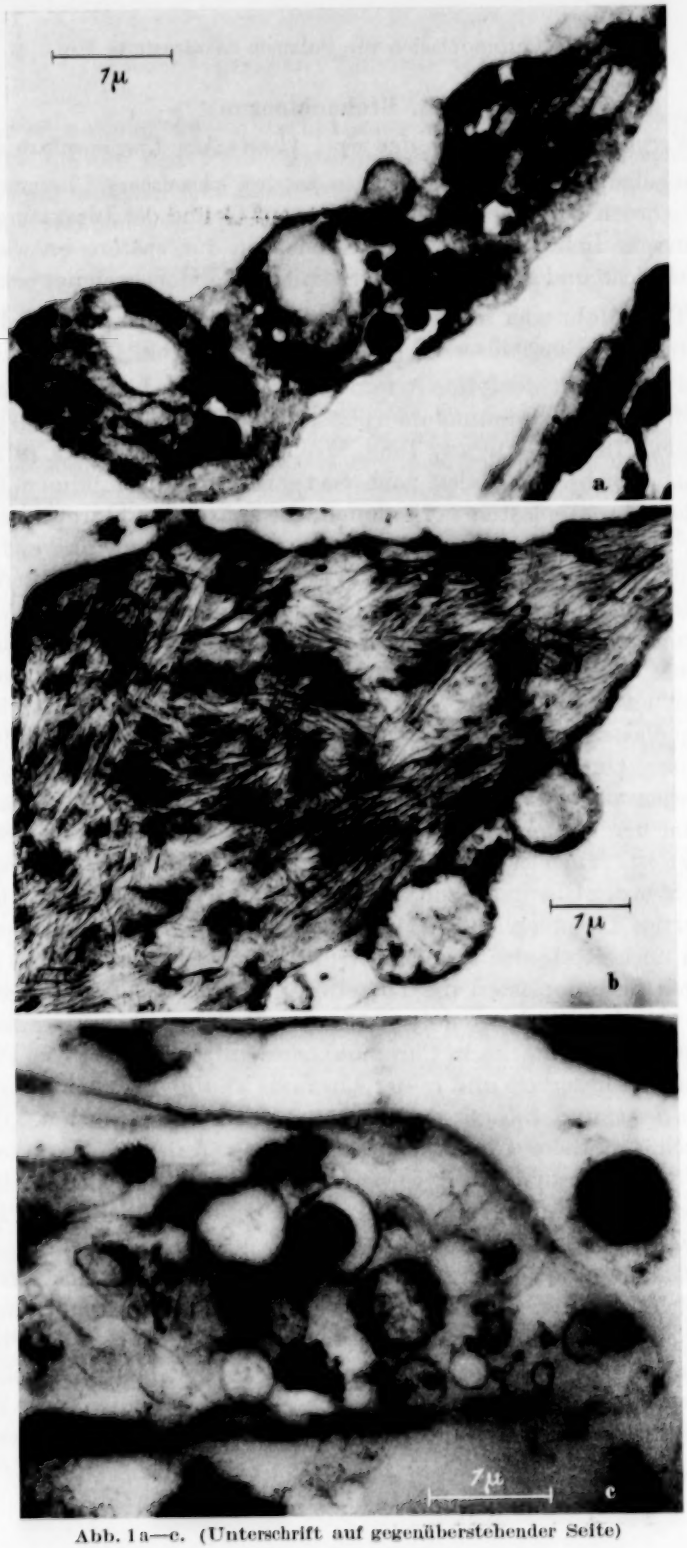


Abb. 1a—c. (Unterschrift auf gegenüberstehender Seite)

Beziehungen zu gelbgrünen Plastidenmutanten (Stubbe und v. Wettstein 1956) bestehen, läßt sich vorerst nicht sagen.

2. Typ. Spindelförmige bis polyedrische Chromoplasten mit fibrillärer Binnenstruktur: *Rosa canina*, Hypanthium (Fritsch 1883, Meyer 1883, Schimper 1883a, 1885) und *Solanum capsicastrum*, Pericarp (Hofmeister 1867, Fritsch 1883, Trecul 1858, Weiss 1864), *Solanum pseudocapsicum* (Kraus 1872).

Im elektronenmikroskopischen Bild (Abb. 1b) beobachtet man innerhalb einer allerdings nicht in jedem Schnitt gut sichtbaren Plastidenmembran eine Binnenstruktur aus meist parallel gerichteten fibrillären Elementen, die durch ihre Verlaufsrichtung die Plastidenform bestimmen (Steffen und Walter 1955).

Der Durchmesser der im Elektronenmikroskop beobachteten Fibrillen liegt unterhalb des Auflösungsvermögens des Lichtmikroskops, so daß die bei guter lichtoptischer Ausrüstung sichtbaren streifigen Strukturen nicht mit Einzelfibrillen, wohl aber mit Fibrillenbündeln zu identifizieren sind. Schimpers Angabe (1885), daß in spindelförmigen Chromoplasten von *Rosa* nur ein einziger Kristall sichtbar sei, ist wohl auf eine zur Analyse nicht ausreichende Optik zurückzuführen. Das Peristromium ist bei den spindelförmigen Chromoplasten von *Solanum capsicastrum* breiter, und die Abstände der Fibrillen voneinander sind größer als bei den Hagebutten-Chromoplasten.

3. Typ. Durch Kristallbildung bedingte Chromoplastenformen. *Daucus carota*, Speicherorgan. In multigranulären, chlorophyllhaltigen Proplastiden des Speicherorgans von *Daucus carota* entstehen zunächst Carotingranula, in denen später das Carotin auskristallisiert (Steffen, unveröffentlicht, im Gegensatz zu Bartels 1954, vgl. dazu auch Frey-Wyssling, Ruch und Berger 1956). Die Form des wachsenden Kristalls bestimmt von einem gewissen Zeitpunkt an die Plastidenform. Obwohl das Objekt Gegenstand zahlreicher Untersuchungen war (Literaturübersicht bei Straus 1953), sind noch viele Fragen offen. Anhand des elektronenmikroskopischen Bildes kann mit Sicherheit gesagt werden, daß die mittelgroßen Kristalle noch eine Plastidenhülle besitzen. Diese ist, nachdem das Carotin durch den Präparationsprozeß herausgelöst wurde, übriggeblieben und läßt in ihrem Umriß noch die Form des Kristalls erkennen. Über die verschiedenen innerhalb der doppelkonturierten Plastidenmembran sichtbaren Granula können z. Z. noch

Abb. 1a—c. Chromoplastentypen. a Ellipsoidische Plastiden: *Aloe plicatilis*, Perigon. Links und rechts Übergangsformen vom Chloro- zum Chromoplasten, in der Mitte fertiger Chromoplast mit einem ihm rechts seitlich anliegenden Chondriosom. b Spindelförmige bis polyedrische Plastiden: *Solanum capsicastrum*. Kelchgewebe. Dem polyedrischen Chromoplasten liegen unten drei angeschnittene Chondriosomen an. Beachte in der Plastide die sich überkreuzenden Fibrillen! c Durch Farbstoffkristalle in ihrer Form bestimmte Plastiden: *Daucus carota*, Speicherorgan. Die Plastidenmembran läßt noch die Umrißform des herausgelösten Kristalls erkennen

keine Aussagen gemacht werden. Eine Beziehung zu lichtmikroskopisch sichtbaren Strukturen läßt sich nicht herstellen, da die Artefaktbildung bei diesem Objekt noch nicht übersehen werden kann. Eine von STRAUS (1950, 1953) postulierte fibrilläre Feinstruktur läßt sich nicht nachweisen. Die von ihm beschriebenen „border lines" und „-fibers" sind durch die räumliche Form der Plastiden und die an ihr verursachte Lichtbrechung bedingt.

Auf Grund dieser Voruntersuchungen wurden für die weitere elektronenmikroskopische Analyse Chromoplasten des zweiten Typs gewählt. Dabei waren folgende Gesichtspunkte maßgebend: 1. Die Feinstruktur dieser Plastiden ist relativ unempfindlich gegenüber den Präparationsmethoden; 2. dieser Typ stellt wahrscheinlich die höchstentwickelte Chromoplastenstufe dar und 3. ließ sich an diesem Objekt der Übergang der lamellären in die fibrilläre Feinstruktur zeigen und damit beweisen, daß nicht alle Chromoplasten Degenerationsstadien sind, wie es von manchen Autoren neuerdings angenommen wird. Gerade im Hinblick auf diese Auffassung wählten wir die Chromoplasten des Kelches und der Beere von *Solanum capsicastrum*, stellt doch der Vergilbungsprozeß des Kelches nach allgemeiner Auffassung einen Degenerationsprozeß dar.

### *II. Die Chromoplasten von Solanum capsicastrum*

**1. Die Struktur der Chromoplasten.** *a) Lichtoptische Analyse.* Zur Lebenduntersuchung wurden neben Schnitten durch den Kelch vor allem Flächenschnitte durch das Pericarpgewebe verwendet. Epidermis und Parenchymgewebe des Pericarps enthalten orange gefärbte Chromoplasten, die in Form und Zahl in den einzelnen Gewebeschichten variieren (vgl. auch KRAUS 1872 für *S. pseudocapsicum*, desgleichen COURCHET 1888, S. 307). In den 5—8 Zellagen unter der Epidermis ist die Anzahl der Chromoplasten am größten. Hier wurden bis zu 50 Plastiden je Zelle gezählt, wobei die ovalen Formen dominierten. In den tiefer gelegenen Zellschichten sind die Chromoplasten weniger zahlreich. Hier herrschen die Spindeln mit ihren Formenvariationen (Halbmonde, ringförmig geschlossene Spindeln und die verschiedensten Polyedertypen) vor.

Die Größe der Chromoplasten ist unterschiedlich. So wurden für ellipsoidische Formen durchschnittlich 7 $\mu$ Länge und 5—6 $\mu$ Breite, für Spindeln 12—25 $\mu$ Länge und 3—6 $\mu$ Breite und für Polyeder an Stellen größter Ausdehnung 20—25 $\mu$ gemessen. Bei geeigneter Kondensor-Apertur ist in den Chromoplasten eine fibrillenartige Struktur zu erkennen (Abb. 2), die besonders bei Spindel- und Polyederformen als deutliche Längsstreifung hervortritt. Nicht selten sind kompaktere, rundliche Aggregate innerhalb des Plastidenkörpers zu beobachten, die sich durch intensivere Färbung von dem übrigen Plastideninhalt abheben.

Die Chromoplasten zeigen in Wasser zwischen gekreuzten Polars eine starke, positive Doppelbrechung in bezug auf die Plastiden-Längsachse. Dabei treten Polarisationsfarben auf. Diese sind bei Verwendung des Brace-Köhlerschen Glimmerkompensators ($1/16\,\lambda$) bei $+45^0$ gelb und bei $-45^0$ bläulich.

Beim Drehen des Mikroskoptisches tritt keine vollständige Auslöschung ein. Verschwindet die positive Doppelbrechung in der Plastidenlängsachse, so läßt sich an den Seiten und an einigen, meist zentral

Abb. 2. *Solanum capsicastrum*. Chromoplasten aus dem Pericarp. Mikroaufnahme im Hellfeld. Innerhalb der Plastiden sind grobfibrilläre Strukturen und granuläre Aggregate sichtbar. Vergr. 1 000fach

gelegenen Stellen des Chromoplasten eine schwache Doppelbrechung beobachten. Bewegt man das Präparat im gleichen Drehungssinn weiter, so tritt die Hauptdoppelbrechung wieder auf, während die schwache Doppelbrechung verschwindet. Aus diesem Verhalten läßt sich auf eine bevorzugt in der Längsachse des Plastiden verlaufende, gerichtete Feinstruktur schließen, die mit quer oder schräge verlaufenden, ebenfalls gerichteten Elementen durchsetzt ist.

Mikroskopiert man die Chromoplasten über dem Polarisator allein, läßt sich in bezug auf die Längsrichtung Dichroismus von Orange zu Blaßgelb nachweisen. Dadurch wird gerichtet eingelagertes Pigment angezeigt. Es ist bemerkenswert, daß der Dichroismus nicht einheitlich ist, sondern entsprechend der partiellen Auslöschung an den schon beschriebenen seitlichen und mittleren Stellen im Plastidenkörper ebenfalls partiell bei der Drehung des Präparates auftritt.

Bei gelindem Druck auf das Deckglas gelingt die Aufspaltung des Chromoplasten. Dabei werden Fibrillen frei, die im Chromoplasten hauptsächlich parallel zur Längsachse des Plastidenkörpers lagen. Daneben finden sich vereinzelt quer oder schräg liegende Fibrillen. Die Fibrillen zeigen zwischen gekreuzten Polars denselben Dichroismus und dieselbe positive Doppelbrechung zur Länge wie die Chromoplasten (Abb. 3). Da Dichroismus und Doppelbrechung in den Fibrillen gleichsinnig auftreten, müssen die Pigmente entlang den Fibrillen angeordnet sein.

Abb. 3. *Solanum capsicastrum.* Aus Chromoplasten isolierte Fibrillen. Polarisationsoptische Aufnahme bei gekreuzten Nicols unter Verwendung des Brace-Köhlerschen Glimmerkompensators (1/16 $\lambda$). Dunkel die ursprünglich in der Plastidenlängsachse orientierten Fibrillenbündel, hell die $\pm$ senkrecht dazu verlaufenden. Letztere kommen stets in geringerer Zahl vor. Vergr. 2000fach

Die schon beschriebene schwache Doppelbrechung und der partielle Dichroismus der intakten Chromoplasten in Richtung der Plastiden-Querachse ist demnach durch schräg bzw. quer verlaufende Fibrillen bedingt. Da hierbei Überkreuzungen mit den längs verlaufenden Fibrillen vorkommen, liegt die Vermutung nahe, daß die im Hellfeld beobachteten kompakten und intensiver gefärbten Aggregate nichts anderes als Überkreuzungsstellen sind.

Das Vorkommen der anisotropen, dichroitischen Fibrillen weist auf einen Mischkörper hin, bei dem carotinhaltige Bestandteile mit nicht carotinhaltigen abwechseln. Die Existenz eines solchen Mischkörpers wird auch durch die elektronenmikroskopischen Voruntersuchungen der *Solanum*- und *Rosa*-Chromoplasten bestätigt.

Diese Ergebnisse entsprechen im Prinzip den Befunden SAVELLIS (1937, 1938a) an Chromoplasten von *Dracaena draco*.

*b) Elektronenoptische Analyse.* Im elektronenmikroskopischen Bild eines Dünnschnittes (Schnittdicke unter 400 Å) erscheinen die Chromoplasten bei schwacher Vergrößerung als rundliche, ovale oder spindelförmig gestreckte Körper, je nachdem in welcher Ebene und Richtung der Feinschnitt geführt wurde. Sie heben sich durch ihre Osmiumadsorption deutlich vom heller durchstrahlten Untergrund ab. Bei stärkerer Vergrößerung (etwa 6000—12000fach) wird die submikroskopische Binnenstruktur sichtbar.

Aus den Längsschnittbildern (Abb. 4) geht hervor, daß die Chromoplasten eine von einer Doppellamelle gebildete „Membran" (*m*) besitzen. Die „Membran"dicke beträgt 350—400 Å. Aus dem osmotischen Verhalten der Plastiden muß geschlossen werden, daß es sich um eine semipermeable Membran und nicht um eine lediglich durch den Fixierungsprozeß hervorgerufene Phasengrenzlamelle (Frey-Wyssling 1955a u. b) handelt. Innerhalb der Plastidenmembran muß die periphere fibrillenfreie Stromazone als Peristromium gedeutet werden (vgl. Strugger 1956).

Der Plastidenkörper baut sich in seinem Innern aus gerichteten, mikrofibrillären Strukturelementen auf (Abb. 4 und 5), die in ein feinkörniges Stroma eingebettet sind. Die fibrilläre Natur dieser Strukturen geht aus ihrem Querschnittsbild (Abb. 5 u. 6, *q*) und aus den zahlreichen Überkreuzungen (Abb. 1b, 4 u. 5, *x*) hervor, an denen entweder einzelne Fibrillen oder Fibrillengruppen beteiligt sind und die bei lamellärem Bau undenkbar wären. Diese Bauelemente, die auf Grund ihrer Größenordnung (Meßwerte des Fibrillendurchmessers liegen zwischen 100 und 450 Å) als Mikrofibrillen anzusprechen sind (Frey-Wyssling 1955a), zeigen meist einen parallel zur Längsachse des Plastiden gerichteten Verlauf. Daneben treten vereinzelt schräg oder senkrecht zur Plastidenlängsachse gerichtete Mikrofibrillen auf (Abb. 4 u. 5). Polyedrische Chromoplasten sind in ihrer Form durch mehrere, gleichwertige Verlaufsrichtungen bedingt. In solchen Chromoplasten beobachtet man oft Überkreuzungen und Verflechtungen der Mikrofibrillen (Abb. 4 u. 5, *x*). Bei starker Vergrößerung scheinen quergetroffene Mikrofibrillen von größerem Durchmesser aus einem dunkel konturierten Zylindermantel und einem helleren Binnenkörper zu bestehen (Abb. 6, *z*). Diese unterschiedliche Durchstrahlbarkeit dürfte durch Osmiumadsorption an der Oberfläche der Mikrofibrillen bedingt sein (Frey-Wyssling 1955a); jedoch wird diese Struktur nur an Fibrillen größeren Durchmessers sichtbar, wahrscheinlich liegt sie unterhalb des Auflösungsvermögens. Beim weiteren Studium der Querschnittsbilder fällt auf, daß neben rein zylindrischen Mikrofibrillen auch bandartige vorkommen (Abb. 6, *b*). Messungen des Mikrofibrillendurchmessers ergaben drei Größenklassen von statistisch sehr gut gesicherten Mittelwerten von

**Abb. 4.** *Solanum capsicastrum.* Längsschnitt durch einen Chromoplasten aus dem Pericarp. Zeichenerklärung: *m* Plastidenmembran, *o* osmiophile Granula, *x* Überkreuzungsstellen der Mikrofibrillen, *a* lokale, den osmiophilen Granula ähnelnde Anschwellungen der Mikrofibrillen

Abb. 5. *Solanum capsicastrum*. Schnitt durch einen polyedrischen Chromoplasten aus dem Kelchgewebe. Die im polyedrischen Chromoplasten unregelmäßig verlaufenden Mikrofibrillenbündel sind teils quer oder schräge (*q*), teils längs angeschnitten. Links unten ein Chondriosom (*ch*). Zeichenerklärung s. Abb. 4

je 135 Å, 235 Å und 345 Å. Die dünnen Mikrofibrillen (135 Å) kommen selten vor, die beiden anderen Größenklassen dagegen regelmäßig, die mittlere Klasse von 235 Å tritt am häufigsten auf.

In den elektronenmikroskopischen Bildern sind immer durch Osmium geschwärzte, regellos verteilte Granula (*o*) von 0,05—0,2 $\mu$ Größe zu finden. Anhand der Abb. 4 u. 5 läßt sich zeigen, daß sie auch an den Mikrofibrillen als lokale Anschwellungen auftreten können.

Abb. 6. *Solanum capsicastrum*. Ausschnitt aus einem schräg geschnittenen Chromoplasten des Kelches. Die Fibrillen sind durch den Schrägschnitt in kleine Stückchen zerschnitten, die an der Anschnittstelle zuweilen einen hellen Binnenraum in einem dunkel erscheinenden Zylindermantel (*z*) erkennen lassen. Beachte besonders die bandförmig verbreiterten Mikrofibrillen (*b*)!

Osmiumgeschwärzte, granuläre Strukturen sind von verschiedenen Autoren in den Plastiden der Algen und Angiospermen abgebildet worden (z. B. von LEYON 1954a u. b, 1956, LEYON u. v. WETTSTEIN 1954, STEINMANN u. SJÖSTRAND 1955, vgl. auch GRANICK 1955). Sie werden von FREY-WYSSLING (1955 a u. b) für Entmischungstropfen gehalten, die infolge der Fixierung auftreten.

Aus der folgenden Schilderung der Chromoplastenentwicklung wird aber hervorgehen, daß solche granulären Gebilde auch einem besonderen Zustand der Feinstruktur entsprechen können.

**2. Chromoplastengenese.** Die Chloroplastenmetamorphose wurde am Parenchymgewebe des Kelches untersucht. Dieses Gewebe ist präpara-

tionstechnisch besonders günstig, da sich die einzelnen Zonen mit den verschiedenen Umwandlungsstadien der Plastiden relativ gut voneinander trennen lassen. Durch vergleichende Untersuchungen wurde sichergestellt, daß 1. die Ausgangsstruktur der Chloroplasten im Parenchym von Laubblatt, Kelch und Beere und 2. das Endstadium der Chromoplasten in Kelch und Beere übereinstimmen.

*a) Lichtoptische Voruntersuchungen.* Handschnitte der Übergangszone zwischen grünem und orange-gelbem Bereich zeigen, neben Zellgruppen mit intakten Chloroplasten, Zellen mit hell- bis blaßgrünen und mit gelben bzw. orangefarbenen Plastiden. Die intakten, ovalen Chloroplasten haben eine Größe von $5 \times 3$—$4\,\mu$; bei den verblassenden sind die Ellipsenachsen um jeweils $1$—$2\,\mu$ verlängert. In den verblassenden, hellgrün gewordenen Plastiden läßt sich noch eine geordnete Lage der Grana erkennen; sie sind jedoch weniger intensiv gefärbt. Beim Übergang solcher Anfangsstadien der Chloroplastenumwandlung in ein mehr grün-gelbliches Zwischenstadium wird die Verminderung des Chlorophyllgehaltes offensichtlich. Auch in den rein gelb gefärbten Entwicklungsstadien behalten die Plastiden zunächst noch ihre an die Chloroplasten erinnernde Umrißform. Im Plastidenstroma sind einige schwach sichtbare, dunkle Körper zu erkennen, die möglicherweise Reste der Grana darstellen. Das Chlorophyll scheint völlig abgebaut zu sein. Die Gelbfärbung dürfte durch die erhalten gebliebenen Lipochrome des Chloroplasten hervorgerufen werden. Diese gelbe Chromoplastenstufe erweist sich als überaus labil und reagiert schon auf geringfügige Veränderungen des Milieus. Bei schwacher Alkoholkonzentration und leichtem Druck auf das Deckglas platzen die Plastiden, und ihr Inhalt tritt als kleine, gelbliche Tröpfchen aus. Die gleichen Beobachtungen machte Zurzycki (1954) an Entwicklungsstadien von *Sorbus*-Chromoplasten, die demselben Chromoplastentyp wie *Solanum capsicastrum* zuzuordnen sind.

Es folgt nun eine charakteristische Phase der Umwandlung, die durch eine teilweise Längsstreckung der rundlichen, ovalen Plastiden ausgezeichnet ist. Dabei resultiert ein langgestreckter, unregelmäßiger Körper von unterschiedlicher Größe. Die gelbe Farbe dieser Formen ist unverändert geblieben, während die Grana nicht mehr sichtbar sind.

In der Endphase erfolgt dann die definitive Streckung zu Spindeln oder die Umwandlung in Polyeder. Dabei färbt sich der nun fertig ausgebildete Chromoplast orange, was auf eine Vermehrung der Pigmente hinweist. Jetzt sind auch die schon beschriebenen Fibrillenstrukturen polarisationsoptisch nachweisbar.

Aus den lichtmikroskopischen Voruntersuchungen ergibt sich also, daß die Chromoplasten von *Solanum capsicastrum* sich aus den Chloroplasten entwickeln. Mit der fortschreitenden Verwandlung geht der

Verlust des Chlorophylls einerseits und wahrscheinlich eine Synthese von Lipochromen andererseits einher. Die Granastruktur wird aufgegeben. Während des Umwandlungsprozesses entsteht ein labiler Strukturzustand, der sich durch leichte Entmischbarkeit auszeichnet. In der Endphase treten die typische Chromoplastenform und die Fibrillenstruktur auf.

Auf die von WEISS (1864, 1866), KRAUS (1872) und FRITSCH (1883) vertretene und wahrscheinlich von TRÉCUL inspirierte Auffassung, daß die Spindeln durch Aufreißen der vacuolisierten Plastiden entstehen, braucht hier wohl nicht näher eingegangen zu werden, zumal sie von COURCHET (1888, S. 310 u. 323) hinreichend widerlegt wurde.

*b) Elektronenoptische Untersuchungen.* Die Feinstruktur des Chloroplasten entspricht der des besten untersuchten Typs, *Aspidistra* (LEYON 1954 b, 1956, STEINMANN und SJÖSTRAND 1955); Stroma und Granalamellen kommen in gleicher Zahl vor (vgl. die Typenzusammenstellung bei MÜHLETHALER 1956, 1957 a).

Die Abb. 7 a stellt einen intakten Chloroplasten aus dem Kelchgewebe von *Solanum capsicastrum* dar, die Abb. 7 b einen Ausschnitt aus dem mittleren, rechten Bildteil. Eine etwa 100 Å dicke, einfach konturierte „Membran" (*m*) umgibt den Chloroplasten. Im rechten unteren Bildabschnitt der Abbildung 7 a ist sie besonders deutlich sichtbar. Im Plastideninneren liegen die von den Stromalamellen (*st*) (= Struggersche „Trägerlamellen") in geordneter Lage und Verteilung gehaltenen Grana (*g*). Jedes Granum besteht in der Regel aus 20—30 runden, säulenförmig übereinandergelagerten Scheiben (disks) mit einem Durchmesser von etwa 0,5 $\mu$. Jede dieser Scheiben (*d*) stellt eine Struktureinheit des Granums dar. Sie besteht aus einer in sich geschlossenen, begrenzenden Membran und einem durchstrahlbaren Binnenkörper. Auf dem Querschnitt (Abb. 7 a u. b) erscheinen die Scheiben als Doppellamellen, die, bei genauerer Betrachtung, durch U-förmige Bögen am Rande miteinander verbunden sind. Die Stromalamellen (*st*) setzen direkt an den Scheiben an, zeigen dieselbe Verlaufsrichtung wie diese und verbinden die einzelnen Granascheiben untereinander. Besonders deutlich ist die beschriebene Struktur des Chloroplasten im rechten unteren Bildabschnitt der Abb. 7 a zu erkennen; im linken Bildteil wird sie durch die Schräglage der Schnittebene undeutlich. Durch die Stärkeeinlagerung (*h*) ist die Reihenordnung der Grana und ihrer Scheiben zum Teil verschoben. Dies ist für die Grana im ganzen Bild, für die Granascheiben z. B. in der Säule oberhalb der unteren Stärkevacuole zu erkennen. MEVIUS u. DÜVEL (1953) betrachten die Versetzung der Grana im Gegensatz zu STRUGGER (1951) als reelle Strukturordnung.

Messungen ergaben eine Dicke von 70 Å für die Granalamellen und von 55 Å für die Stromalamellen. Der Durchmesser des von den Lamellen

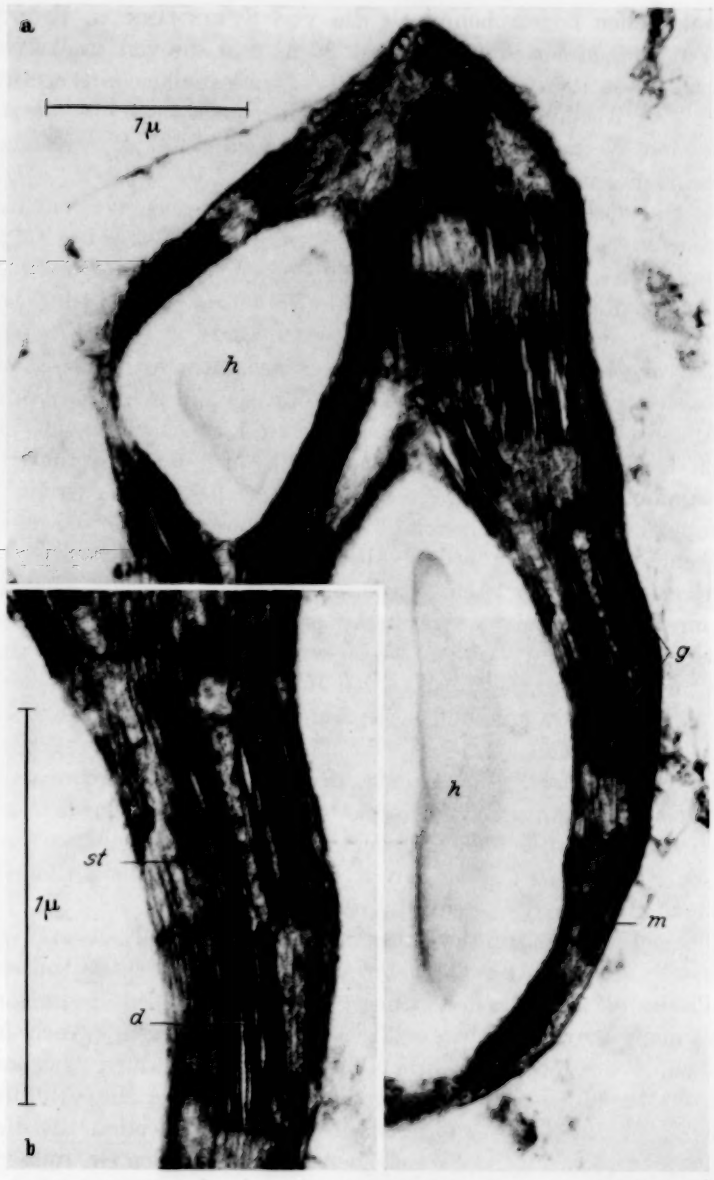


Abb. 7 a u. b. a *Solanum capsicastrum*. Längsschnitt durch einen Chloroplasten aus dem Kelchgewebe. b Stellt einen vergrößerten Ausschnitt der Abb. 7a dar. Zeichenerklärung: *st* Stromalamellen, *g* Grana, *d* Granascheiben (disks) mit Doppellamellenstruktur, *h* Stärkekörner, *m* Plastidenmembran

eingeschlossenen Raumes und der Abstand der einzelnen Scheiben voneinander beträgt etwa 60—70 Å. Die Meßwerte für grana- und

Stromalamellen liegen höher als die von STEINMANN u. SJÖSTRAND (1955) an *Aspidistra elatior* (35 und 30 Å) und die von v. WETTSTEIN (nach GRANICK 1955) bei *Hordeum* (30 Å für Granalamellen) ermittelten Werte. Der Abstand der Granalamellen entspricht dem bei *Aspidistra* gefundenen Wert, jedoch sind die Granascheiben bei *Aspidistra* weiter voneinander entfernt (115—135 Å).

Der Unterschied in der Lamellendicke muß besonders betont werden, da neuerdings von STUBBE und v. WETTSTEIN (1956) bei *Oenothera* Chloroplasten gleiche Durchmesser (60 + 20 Å) für Grana- und Stromalamellen gemessen wurden. Die Chloroplastenstruktur wird bei der Umwandlung der Plastiden völlig desorganisiert. Wie aus den Abb. 8a u. b hervorgeht, werden zunächst die Stromalamellen eingeschmolzen. Die Labilität des Stromaplasmas macht sich durch das Auftreten von Entmischungsgranula (*o*) und kleineren, kugeligen Anschwellungen in den Lamellen bemerkbar (Abb. 8a, *s*). Mit der Destruktion der Stromalamellen verlieren die Scheiben benachbarter Grana ihren Zusammenhalt. Auch innerhalb der Säulen verschieben sich die Scheiben und vergrößern den Abstand untereinander. Dies kommt besonders gut in der Abb. 8b zum Ausdruck, die die Grana zum Teil im Flächenschnitt zeigt, wobei sich einzelne Scheiben gegeneinander verschoben haben. Bemerkenswert ist das Auftreten von tropfenartigen Strukturen (s) an den Rändern der Granascheiben, und zwar an den Umbiegungsstellen der Lamellen. Auf dem Flächenschnitt eines Granums beobachtet man diese Tröpfchen in fast regelmäßigen Abständen voneinander am Rande der Scheiben. Sie werden als lokale Substanzansammlungen der destrukturierten Stromalamellen an den benachbarten Granascheiben gedeutet. Innerhalb der Granalamellen sind die gleichen Erscheinungen zu beobachten (*s*), die anzeigen, daß auch hier Strukturen aufgelöst werden.

Ein Übergangsstadium zwischen der blaßgrünen und gelben Plastidenstufe stellt die Abb. 9a dar. Man erkennt neben den Entmischungsgranula des Stromas die desorientierten Granascheiben, die immer noch andeutungsweise die frühere Säulenanordnung zeigen. Auch in den Scheiben ist eine fortschreitende Auflösung der Struktur zu beobachten. In diesem Plastidenstadium treten nun Vorstufen der Mikrofibrillen auf (Abb. 9a, *f*), die eine etwas geringere Osmiumadsorption als die Entmischungstropfen zeigen. Sie scheinen aus osmiophilen Granula zu entstehen (Abb. 9a u. b). Diese Vorstufen erweisen sich als sehr fixierungsstabil. Dies geht aus der Abb. 9b hervor, die das schon lichtoptisch als sehr labil erkannte gelbe Plastidenstadium zeigt. Zwischen die dunkleren Entmischungsgranula sind alle möglichen Mikrofibrillen-Vorstufen (*f*) eingestreut. Es ist anzunehmen, daß in der sonst labilen Phase diese Formen durch ordnende Kräfte entstanden sind. Aus der

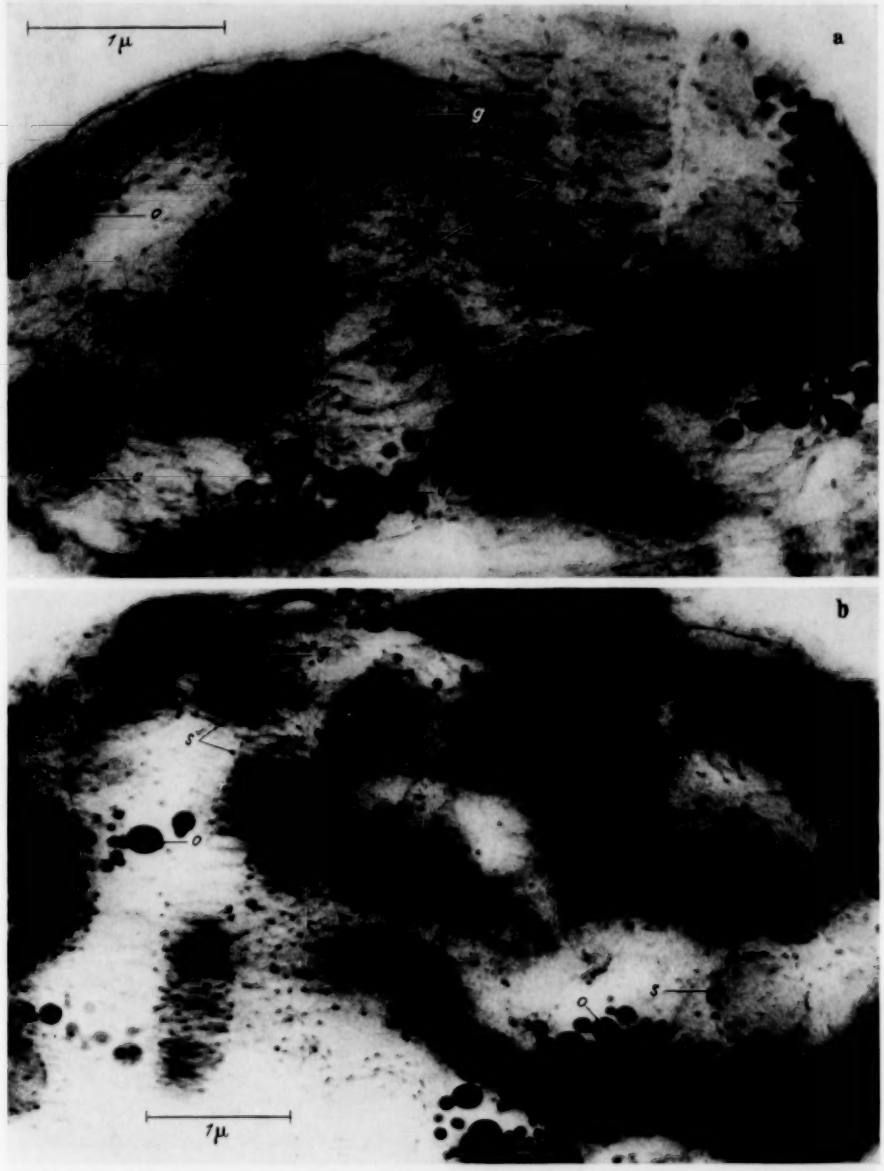


Abb. 8a u. b. *Solanum capsicastrum*, Kelchgewebe. Chromoplastenentwicklung. a Längsschnitt durch einen sich umwandelnden Chloroplasten (blaßgrünes Stadium). Zeichenerklärung: *o* Entmischungsgranula der Stromalamellen, *g* verschobene Granasäulen, *s* kugelige Anschwellungen der Lamellen. — b Blaßgrünes Stadium, die Grana teilweise im Flächenschnitt zeigend. An der rechten unteren Granascheibe sind die randständigen Entmischungsgranula besonders deutlich (*s*). An den beiden oberen Granasäulen sieht man außerdem die kugeligen Anschwellungen der Lamellen

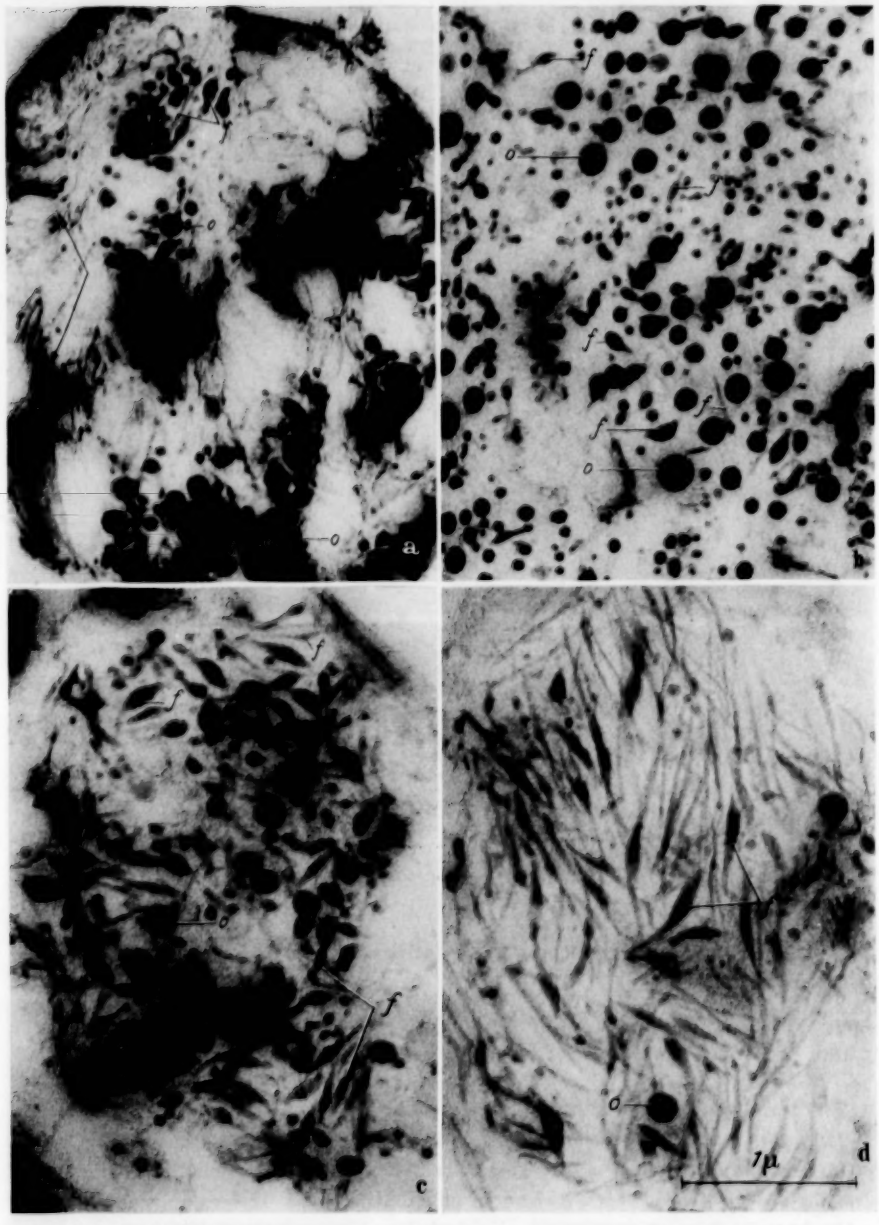


Abb. 9a—d. *Solanum capsicastrum*. Chromoplastenentwicklung. a Übergangsstadium zwischen blaßgrüner und gelber Plastidenphase. b Gelbes Plastidenstadium (labile Phase), Ausschnittsbild. Neben den osmiophilen Granula (*o*) treten in vermehrtem Maße Fibrillenvorstufen verschiedenen Entwicklungsgrades (*f*) auf. c und d Fortgeschrittene, gelb-orange gefärbte Stadien mit vermehrter Fibrillen- und verminderter Granulazahl. — Die Pfeile kennzeichnen desorientierte Granasäulen

Abb. 9a könnte vielleicht geschlossen werden, daß sich die ersten Vorstufen aus den Granalamellen bzw. deren Bausteinen herausbilden. Daß diese Mikrofibrillen-Vorstufen die erste Phase in der Differenzierung der Chromoplastenfibrillen darstellen, wird durch die Abb 9c belegt, die weitere, fortgeschrittene Stadien der Mikrofibrillenentwicklung zeigt. Die Vorstufen werden immer zahlreicher. Ihre Umwandlung erfolgt durch „Streckung", d. h. mit zunehmender Fibrillenlänge nimmt der Durchmesser der Granula ab (Abb. 9c u. d). Hierin äußert sich wieder die Wirkung unbekannter, ordnender Kräfte.

Im jungen Chromoplasten haben die Mikrofibrillen ihre Endform fast erreicht (Abb. 9d). Man hat den Eindruck, daß auch partiell breitere, bandartige Formen auftreten. Im fertig ausgebildeten Chromoplasten (Abb. 4) sind die Mikrofibrillen maximal gestreckt und meist parallelisiert. Dabei treten die schon beschriebenen 3 Größenklassen der Mikrofibrillendurchmesser auf.

Die lichtoptischen Befunde werden durch die elektronenmikroskopischen Ergebnisse ergänzt. Es erscheint wesentlich, daß bei der Chromoplastenentwicklung der Plastidenkörper völlig umorganisiert wird. Die Lamellenstruktur des Chloroplasten wird aufgegeben und eine neue Grundstruktur aufgebaut. Sie entsteht aus tropfenartigen Vorstufen, die sich zu Mikrofibrillen umbilden.

Damit sind für die Deutung der im Plastiden auftretenden osmiumgeschwärzten Granula zwei Möglichkeiten gegeben. Sie können 1. als Entmischungsprodukte (im Sinne von Frey-Wyssling, 1955a u. b. und von Steinmann u. Sjöstrand 1955, vgl. auch Granick 1955) und 2. als gesetzmäßig auftretende Zwischenprodukte bei der Chromoplastenentstehung angesehen werden. Es ist wahrscheinlich, daß beide Produkte im elektronenmikroskopischen Bild nebeneinander zu beobachten sind. Unterscheidbar werden sie allerdings erst, wenn die Mikrofibrillen sich zu bilden beginnen, und die Kugelform in Ellipsoide übergeht.

Es wird im folgenden mit Hilfe einer Hypothese versucht, die submikroskopische Morphologie der Chromoplasten, die Struktur der Mikrofibrillen und das Auftreten der unterschiedlich dicken Mikrofibrillen (3 Größenklassen von Meßwerten) zu erklären.

### C. Die submikroskopische Morphologie der Chromoplasten

Nach Frey-Wyssling (1938, 1953 und 1955b) besteht die weitaus größte Zahl submikroskopischer Struktureinheiten aus kugeligen Protein-Makromolekülen, deren Durchmesser zwischen 35 und 250 Å liegt. In einem Kugelmakromolekül sind die amikroskopischen Bausteine (kurze, schraubige Polypeptidketten) nach einem bestimmten Prinzip geordnet, wie Frey-Wyssling (1955a) aus den röntgenologischen Untersuchungen von Bernal u. Crowfoot (1934) und Crowfoot (1938)

schließt. Infolge der geordneten Lagerung treten durch Summation der zwischen den einzelnen Mikromolekülen wirkenden, molekularen Nahkräfte (sog. short range forces) molekulare Fernkräfte (long range forces) auf, die über eine Strecke von 100 Å hinaus wirksam sind. Es entsteht daher an der Oberfläche des Kugelmakromoleküls ein Haftfeld (= Haftpunkt, FREY-WYSSLING 1955a), das auf benachbarte Kugelteilchen einwirken kann. Durch die Zahl solcher Haftfelder wird jeweils eine bestimmte, entweder lineare, flächenhafte oder räumliche Aggregation der Kugelmoleküle ermöglicht. So bestehen die Eiweiß-Elementarfibrillen aus linear aggregierten Globularteilchen (Kugelketten). Diese sog. „beaded chains" wurden von BESSIS und BRICKA (1948, 1949) im Elektronenmikroskop sichtbar gemacht. Die Elementarfibrillen (Kugelketten) sind befähigt, durch interfibrilläre Haftkräfte, die an den Berührungspunkten von Kugelketten auftreten, zu größeren Aggregaten zusammenzutreten und so eine plasmatische Gelstruktur aufzubauen. Durch Lösen der Haftstellen kann der Solzustand wieder rückgebildet werden. Die Tendenz zur Bildung von Wasserstoffbrücken kann z. B. interfibrilläre Haftkräfte bedingen.

Nach den Anschauungen der Globulartheorie, die FREY-WYSSLING zum Ausbau seiner Haftpunkttheorie heranzieht, bestehen die Grana- und Stromalamellen eines Chloroplasten aus Kugelmolekülen. Diese liegen in einem hexagonal gepackten, monomolekularen Film (Stromalamellen) oder einem bimolekularen Film gleicher Packung (Granascheiben) vor. Für die Kugelmoleküle des Granums wird aus Messungen der Dicke von Granalamellen ein Durchmesser von etwa 50 Å abgeleitet. Diesem von FREY-WYSSLING und STEINMANN (1953) angegebenen Meßwert steht der von 70 Å für die Granalamellen und damit für den Durchmesser der Grana-Kugelmoleküle bei *Solanum capsicastrum* gegenüber. Für die Globularteilchen der Stromalamellen ergibt sich aus der Lamellendicke bei *Solanum* ein Durchmesser von etwa 55 Å. FREY-WYSSLING (1955a) gibt dagegen einen Kugelmolekül-Durchmesser von 250 Å für die Stromateilchen des Chloroplasten von *Spinacia oleracea* an. Diese Messungen wurden aber am homogenisierten Stroma vorgenommen und sind daher kritisch zu bewerten.

Betrachtet man eine Granumscheibe von der Fläche, so setzt sie sich aus hexagonal gepackten Kugelteilchen zusammen. Die hexagonale Packung bedingt die runde Umrißform der Scheibe. Das Bestehen einer gleichen Packung wird auch für die Stromateilchen angenommen. Bei der Umwandlung der Chloroplastenstruktur in die des Chromoplasten wird im ersten Schritt die flächenhafte Anordnung der Globularmoleküle des Granums und des Stromas durch teilweise Lösung der interfibrillären Haftkräfte im Sinne einer Gel-Sol-Umwandlung aufgegeben. Es tritt nach unserer Hypothese im Chloroplasten ein Zerfall

der Lamellen in Elementarfibrillen (Kugelketten) unterschiedlicher Länge ein. Die Existenz von perlenkettenartigen Elementarfibrillen als kleinste, lebensfähige Einheiten muß postuliert werden, da nur so eine reversible Gel-Sol-Umwandlung der Struktur möglich ist (FREY-WYSSLING 1955a). Die Kugelketten können sich entweder sofort nach der Auflösung der Lamellenstruktur oder erst nach einiger Zeit zu größeren Aggregaten zusammenschließen. In der gelben, labilen Phase des jungen Chromoplasten dürften Kugelketten in beliebiger Verteilung vorliegen. Über die Art und Weise der lockeren Aggregation von Kugelketten läßt sich keine Aussage machen, da hier eine lichtoptische Analyse in vivo nicht möglich ist. Wird das System während dieser labilen Phase durch äußere Einflüsse (Fixierung) gestört, erfolgt eine teilweise Entmischung. Demzufolge treten im elektronenmikroskopischen Bild zwei osmiumgeschwärzte, nicht voneinander zu unterscheidende Granulaformen auf: 1. Entmischungsgranula im Sinne von FREY-WYSSLING (1955a u. b) und STEINMANN u. SJÖSTRAND (1955) und 2. Granula, die lockeren Aggregaten von Kugelketten entsprechen.

In der weiteren Entwicklung schließen sich dann unter der Einwirkung einer unbekannten, ordnenden Kraft die Kugelketten zu bestimmten, geordneten Strukturen (Mikrofibrillen-Vorstufen) zusammen. Diese erweisen sich als recht stabil gegenüber etwaigen Milieuveränderungen und sind im elektronenmikroskopischen Bild als osmiumgeschwärzte, elliptische Granula oder als Tropfen mit polar entspringenden Mikrofibrillenstückchen deutlich von den Entmischungsgranula zu unterscheiden. Bei der Umlagerung muß eine Verschiebbarkeit der Kugelketten untereinander angenommen werden, da mit zunehmender Länge der polar entspringenden Mikrofibrillen die ursprünglich runde bzw. ovale Tropfenform mehr und mehr abgeflacht wird (vgl. Abb. 9c u. d). Durch weitere geordnete Umlagerung von Kugelketten und Fibrillen-Vorstufen entsteht schließlich eine Mikrofibrille.

Es erhebt ich nun die Frage, nach welchem Ordnungsprinzip die Aggregation der fibrillären Strukturelemente zur nächst höheren Einheit erfolgt. Für die Globularproteine mit kugeligen Makromolekülen ist eine Kristallisation im hexagonalen System oder im kubischen Gitter charakteristisch (FREY-WYSSLING 1955a). Es ist anzunehmen, daß der Zusammenschluß von Kugelketten ebenfalls nach den gleichen Prinzipien erfolgt. In unserem Falle erhält man als stabile Form der Aggregation eine 7-Strang-Mikrofibrille (1 Zentralstrang $Z$ + 6 Mantelstränge $M = ZM_6$), wie sie in Abb. 10a schematisch dargestellt ist. Hier sind die Kugelketten als Zylinder gezeichnet. Diese müssen, um das $ZM_6$-Prinzip zu wahren, immer hexagonal gepackt sein. Zeichnet man eine solche Mikrofibrille in der Seitenansicht und setzt dabei an Stelle der Zylinder in Abb. 10a linear aggregierte Kugelketten, so

erhält man das in der Abb. 10b dargestellte Schema, das dem Fibrillenaufbau im Sinne der Globulartheorie entspricht. Das Schema wird auch den Anforderungen der Haftpunkttheorie gerecht, da für jedes Kugelmolekül beim Zusammenschluß 12 Haftstellen angenommen werden können (FREY-WYSSLING 1955a). Gleichzeitig ist eine bestmögliche Raumausnutzung durch die Anordnung der Kugelmoleküle gewährleistet.

In der Abb. 10b sind die beiden Kugelketten der dem Beschauer abgewendeten Seite der Mikrofibrille nicht eingetragen. Denkt man sie sich in das Schema eingezeichnet, so gibt es dafür, nach FREY-WYSSLING (1955a), zwei Möglichkeiten: 1. Die Kugeln liegen genau unter

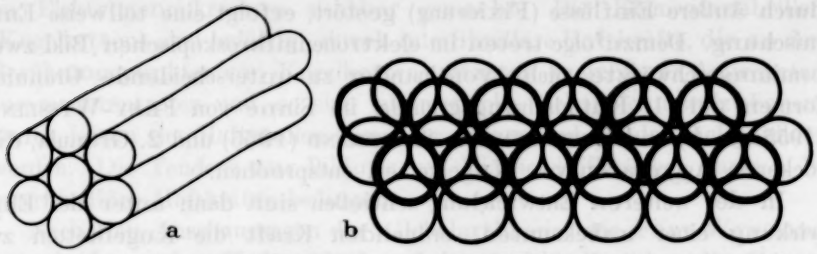


Abb. 10a u. b. Schematische Darstellung von Mikrofibrillen. a Schema einer aus hexagonal gepackten, zylindrischen Elementarfibrillen aufgebauten Mikrofibrille. b Schema einer aus Kugelketten aufgebauten Mikrofibrille in der Seitenansicht. Die dem Beschauer zugewendeten Kugelketten sind verstärkt gezeichnet. Weitere Erklärung im Text

den stärker ausgezogenen Kreisen, die dem Beschauer zugewendete Kugelketten symbolisieren (räumlich gesehen also diesen genau gegenüber), und 2 die Kugeln liegen derart, daß sie in der Projektion eine dritte Schar von Kreisen bilden. Eine solche Anordnung entspricht jeweils einer hexagonalen (Fall 1) und einer kubisch dichtesten Packung (Fall 2). Da in beiden Fällen das übergeordnete, hexagonale $ZM_6$-Prinzip der Zylinderpackung gewahrt bleibt, sind beide Aggregationsformen zulässig. FREY-WYSSLING (1955a) vertritt die Auffassung, daß eine Übereinanderschichtung von Kugelmolekülen nicht rein zufällig im einen oder anderen System erfolgt, sondern durch die auf der Molekülloberfläche wirksamen, als Haftpunkte bezeichneten Kraftfelder bestimmt wird. In unserem Falle müßten bei diesen Vorgängen die zwischen einzelnen Kugelketten wirksamen interfibrillären Haftkräfte (FREY-WYSSLING 1955a) auch noch eine Rolle spielen. Da wir hierüber nichts aussagen können, müssen beim Zusammenschluß von Kugelketten zu Mikrofibrillen beide Möglichkeiten einer Anordnung von Kugelmolekülen untereinander in der Hypothese berücksichtigt werden.

Die beschriebene 7-Strang-Mikrofibrille wird bei *Solanum capsicastrum* als Grundelement der Chromoplastenstruktur angesehen. Da nun Grana- und Stroma-Elementarfibrillen (Kugelketten) aggregieren,

resultieren zwei Typen von Mikrofibrillen, die sich durch ihre Herkunft und ihren Durchmesser voneinander unterscheiden. Wählt man für die jeweiligen Kugelmoleküle die gemessenen Dickenwerte der Stroma- bzw. Granalamellen als Durchmessergröße, so erhält man für eine Mikrofibrille aus Stromaproteiden (55 Å ⌀) einen Wert von etwa 150 Å, für eine solche aus Granaproteiden (70 Å ⌀) einen Wert von etwa 200 Å als Größenordnung der Fibrillendicke. (Wir haben im Gegensatz zu STRUGGER 1956 keinen Anhaltspunkt für die Annahme niederer Baueinheiten.) Eine Mischaggregation von Stroma- und Grana-Kugelketten ist unwahrscheinlich, da die so entstehenden Mikrofibrillen sicherlich

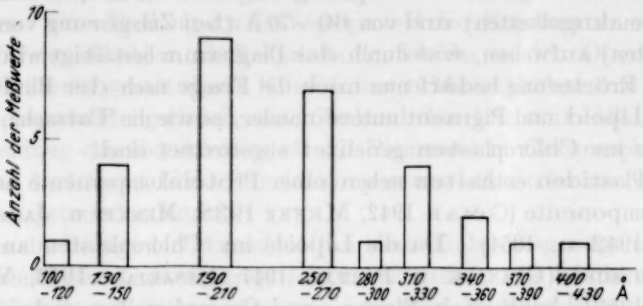


Abb. 11. Häufigkeitsdiagramm der Mikrofibrillen-Meßwerte. Ordinate: Zahl der Meßwerte, Abszisse: Meßwerte in Ångström, in Kolonnen zu je 20 Å dargestellt

keine große Stabilität aufweisen. Um im folgenden eine klare Darstellung der Hypothese zu ermöglichen, sollen die beiden Mikrofibrillentypen mit „Stromafibrillen" und „Granafibrillen" bezeichnet werden. Damit wird lediglich die Herkunft dieser Fibrillen angedeutet.

Ein Vergleich der theoretisch für die Stroma- und Grana-Mikrofibrillen ermittelten Durchmesserwerte mit der durch Messungen an Mikrofibrillen gefundenen ersten und zweiten Größenklasse (135 Å und 235 Å) von Fibrillendicken zeigt zwar eine Annäherung, aber keine befriedigende Übereinstimmung der Zahlenwerte. Ferner ist es nicht möglich, mit den beiden Grundfibrillentypen die dritte gemessene Größenklasse (345 Å zu erklären). Einen wichtigen Hinweis zur Lösung dieses Problems gibt ein in Abb. 11 dargestelltes und anhand von Meßreihen gewonnenes Diagramm der Häufigkeit des Auftretens von einzelnen Meßwerten. Daraus geht hervor, daß die Werte von 190—210, 250—270, 130—150 und 310—330 Å am häufigsten gemessen wurden. Betrachtet man die Abb. 10b vom meßtechnischen Standpunkt aus, so wird, durch die Lagerung der Kugelketten untereinander bedingt, im Falle einer idealen Quer- oder Längsschnittmessung die wahre Fibrillendicke durch drei Globularteilchen bestimmt. Sie erreicht bei kubischer Anordnung der Teilchen einen Höchstwert, der dem 3fachen

Durchmesser der Moleküle entspricht (165 und 210 Å). Bei hexagonaler Anordnung liegen die entsprechenden Werte etwas niedriger (155 und 190 Å). Unter der Voraussetzung, daß ein exakter Mikrofibrillen-Längsschnitt bzw. eine unversehrte Mikrofibrille in toto vorliegt, müßten beim Messen der elektronenmikroskopischen Fibrillenbilder häufig Näherungswerte zu den errechneten Maximalwerten auftreten. Daß dies tatsächlich der Fall ist, kommt in dem Diagramm (Abb. 11) besonders im Hinblick auf die Grana-Mikrofibrillen (190 und 210 Å ⌀) zum Ausdruck.

Neben den Grundeinheiten der Stroma- und Granamikrofibrillen müssen durch Zulagerung von Kugelketten Mikrofibrillen auftreten, die einen charakteristischen Wertesprung von etwa 50 Å (bei Zulagerung von Stromakugelketten) und von 60—70 Å (bei Zulagerung von Granakugelketten) aufweisen, was durch das Diagramm bestätigt wird. Einer weiteren Erörterung bedarf nun noch die Frage nach der Bindung von Protein, Lipoid und Pigment untereinander, sowie die Tatsache, daß die Pigmente im Chloroplasten gerichtet angeordnet sind.

Alle Plastiden enthalten neben einer Proteinkomponente noch eine Lipoidkomponente (COMAR 1942, MENKE 1938, MENKE u. JAKOB 1942, STRAUS 1942 u. 1954). Da die Lipoide im Chloroplasten an Eiweiß gebunden sind (GRANICK u. PORTER 1947, SISAKJAN 1953, YEMM u. FOLKES 1953), bauen sich Stroma- und Granalamellen wahrscheinlich aus Lipoproteiden auf (FREY-WYSSLING 1955a). Da außerdem das Chlorophyll an Eiweiß gebunden ist, liegt im Chloroplasten ein Lipochromoproteid vor (FREY-WYSSLING 1955a). Lipoid- und Pigmentkomponente sollen an der Oberfläche der Kugelmolekülschichten angeordnet sein, was FREY-WYSSLING (1955a) aus der leichten Extrahierbarkeit dieser Stoffe herleitet. Da nach der Auffassung von HUBERT und FREY-WYSSLING die Chlorophyllmoleküle die Lipoid- und Proteinlamellen stabilisieren, müßte beim Chlorophyllabbau, der mit der Chromoplastenbildung einhergeht, die lamelläre Struktur aufgegeben werden (vgl. dazu auch MÜHLETHALER 1957b).

Es soll nun versucht werden, diese Überlegungen auf die Fibrillenstruktur der Chromoplasten zu übertragen. Da die Lipoidmoleküle oder die Lipoidkomponenten eines Lipoproteids mit ihren hydrophilen Enden in die hydrophile Phase des angrenzenden Milieus (homogenes Plasma oder Stroma) hineinragen und damit eine Struktur gegen diese Phase abschirmen können (SCHMIDT 1951, FREY-WYSSLING 1953 u. 1955a), wäre im Falle einer aus Lipoproteid-Kugelmolekülen bestehenden Elementarfibrille die Lipoidkomponente an der Peripherie der Fibrille angeordnet. Dies ergibt sich aus ihrer Lokalisation an der freien Oberfläche der Kugelteilchen (FREY-WYSSLING 1955a). Treten nun Elementarfibrillen zu einer Mikrofibrille zusammen, so wären, wie in dem von FREY-WYSSLING (1955a) diskutierten Aufbauschema des Plasmalemmas,

die Lipoidkomponenten auf der noch freien Oberfläche der Kugelmoleküle angeordnet, wobei sie noch die Zwickel zwischen den einzelnen Globularteilchen ausfüllen. Die Mikrofibrille wird auf diese Art gegen die hydrophile Phase des Plastidenstromas abgeschirmt. Dadurch sind neben der Längsorientierung der Mikrofibrillen zur Plastidenachse die Bedingungen eines Stäbchenmischkörpers erfüllt, wonach außer der gerichteten Struktur eine wohldefinierte Abgrenzung einer Phase (Fibrillen) von einer zweiten (Plastidenstroma) gegeben sein muß (Frey-Wyssling 1953).

Aus dem Dichroismus der Chromoplasten und der Fibrillenbündel wurde auf eine Anordnung der Pigmente entlang der Fibrillen geschlossen. Eine Bindung an das Lipoproteid der Kugelketten wäre somit in der Weise denkbar, daß Farbstoffmoleküle an der Oberfläche der Mikrofibrille eingebaut sind. Dabei könnten Molekülachse und Fibrillen-Längsachse richtungsgleich sein. Anhand der Literatur läßt sich keine Entscheidung darüber treffen, ob die Pigmente im Chromoplasten entweder an die Lipoid- bzw. Proteinkomponente allein oder an beide Komponenten gebunden sind.

Über die Länge der Mikrofibrillen kann nichts ausgesagt werden, da das Ausmaß der Linearaggregation unbekannt ist. Es besteht somit die Möglichkeit des Auftretens kürzerer oder längerer Mikrofibrillen. Ferner ist eine seitliche Verknüpfung von Mikrofibrillengruppen nach Art der Cellulose-Micelle denkbar. Ein Schräg- bzw. Querverlauf von Strukturelementen ist sehr wahrscheinlich, da im Polarisationsmikroskop und im elektronenmikroskopischen Bild Mikrofibrillenbündel auftreten, die sich überkreuzen. Die häufig vorkommenden Polyederformen von Chromoplasten sind durch längere, überkreuzt gelagerte Mikrofibrillengruppen bedingt. Dies ließ sich anhand von elektronenmikroskopischen Aufnahmen mitunter feststellen. Man kann aber nichts über die Bedingungen aussagen, unter denen diese Polyeder entstehen; denn eine passive Dehnung der Plastiden durch mehrere, überkreuzt gelagerte, echte Pigmentkristalle (Schimper 1885) dürfte nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen so gut wie ausgeschlossen sein.

Im folgenden sei das auf Grund der vorgetragenen Hypothese zu entwerfende Bild des Chromoplastenfeinbaus von *Solanum capsicastrum* noch einmal zusammenfassend dargestellt:

Der Chromoplast ist nach dem Prinzip eines Stäbchenmischkörpers gebaut. In einem homogenen Plastidenstroma sind Mikrofibrillen von unterschiedlichem Durchmesser in submikroskopischem Abstand voneinander gerichtet eingelagert. Die Hauptverlaufsrichtung ist die Plastidenlängsachse. Die Mikrofibrillen sind in Gruppen von unterschiedlicher Zahl zusammengefaßt. Die Gruppen können durch größere Abstände voneinander getrennt sein. Da diese Abstände im lichtoptischen Auf-

lösungsbereich liegen, werden bei Beobachtung der Plastiden im Lichtmikroskop Fibrillenstrukturen sichtbar. Querverbindungen zwischen Mikrofibrillengruppen kommen vor. Überkreuzungen sind häufig. Die Chromoplastenpigmente sind gerichtet an der Oberfläche der Mikrofibrillen eingebaut. Eine Verbindung mit Protein zu einem Lipoproteid wird in Analogie zum Chloroplasten auch für den Chromoplasten angenommen.

## D. Diskussion

Die Fibrillenstruktur von Chromoplasten des „Spindeltyps" wurde schon von SCHIMPER (1885) für *Sorbus aucuparia* und *Rosa* spec. erkannt. Die lichtmikroskopisch sichtbaren Fibrillenaggregate wurden von SCHIMPER abgebildet (SCHIMPER 1885, Abb. III/46—47; vgl. auch die Abb. 6, Tafel XV, von COURCHET 1888 für die Komposite: *Cacalia coccinea*) und als „Aggregate kleinster Kriställchen, die zu zierlichem Netzwerk verwoben sind" gedeutet. SAVELLI (1937) untersuchte die spindelförmigen Chromoplasten von *Dracaena draco* im Polarisationsmikroskop. In diesen Plastiden stellte er doppelbrechende, gerichtete, wahrscheinlich fibrillenähnliche Strukturen fest, die durch „feinste Nädelchen submikroskopischer Größe" hervorgerufen werden. Die Ausbildung einer solchen Feinstruktur sieht er als eine Folge des Zusammenwirkens von Pigment und Plastidensubstanz an. Auf Grund dieser Befunde schließt SAVELLI (1937) auf einen Chromoplasten-Feinbau im Sinne eines Stäbchenmischkörpers. ZURZYCKI (1954) vermutet, auf lichtmikroskopische Beobachtungen an *Sorbus*-Chromoplasten gestützt, ein fibrilläres Bauprinzip des Plastidenstromas. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit beweisen, daß bei Chromoplasten des „Spindeltyps" die Struktur tatsächlich aus Fibrillen, und zwar gerichtet, aus nach dem Prinzip eines Stäbchenmischkörpers angeordneten Mikrofibrillen, aufgebaut ist.

Die Annahme, daß auch der *Daucus*-Chromoplast aus fibrillären Elementen aufgebaut sei (STRAUS 1950) erwies sich nach unseren licht- und elektronenoptischen Untersuchungen als Fehlschluß. In seiner Arbeit bringt STRAUS eine Reihe von lichtmikroskopischen Abbildungen, die den Fibrillenbau des *Daucus*-Chromoplasten belegen sollen. Dabei hat der sicherlich mit den Gegebenheiten der lichtmikroskopischen Untersuchungstechnik nicht voll vertraute Autor übersehen, daß die beispielsweise in seiner Abb. 3 dargestellten Chromoplasten im Mikroskop an ihren Rändern eine typische Beugungserscheinung zeigen, wie sie von der mikroskopischen Betrachtung kleiner Kriställchen her bekannt ist. Diese dunklen Linien werden von ihm als Membran oder „border fibers" des Chromoplasten gedeutet. Ebenso sind die von ihm als reelle Granastruktur des Pigments angesehenen und bei der Auflösung des Carotinkristalls auftretenden Entmischungserscheinungen als

nicht echte Strukturen aufzufassen. Der Zerfall der Chromoplasten in einzelne Fibrillen („fibers") ist ebenfalls durch die Auflösung bedingt. Bei lichtoptischer Beobachtung der Auflösungserscheinungen von *Daucus*-Chromoplasten während der Präparation kann man zwar die von STRAUS (1950) beschriebenen Erscheinungen feststellen, sie sind aber unter Berücksichtigung der auftretenden optischen Artefakte anders zu deuten. Außerdem zeigen unsere elektronenmikroskopischen Aufnahmen von *Daucus*-Chromoplasten niemals fibrilläre Strukturen bzw. deren Zerfallsprodukte (einzelne Fibrillen). Daher ist die von STRAUS (1950) für die *Daucus*-Chromoplasten geforderte Fibrillenstruktur abzulehnen.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Chromoplasten liegen bisher nur von ROBERTS u. SOUTHWICK (1948) vor. Diese Autoren haben an isolierten Chromoplasten („carotene bodies") von *Daucus carota*, *Cuscuta arvensis*, *Rosa rugosa*, *Sorbus americana* und *Solanum pseudocapsicum* gearbeitet und das Vorkommen einer strukturellen Einheit („protoplasmic entity") in der Größenordnung von 100 Å bei allen Objekten festgestellt. Aus dieser Struktureinheit sollen nicht nur die Chromoplasten, sondern auch kleinere Carotinkörperchen in Pflanzenzellen sowie das kristallisierte Vitamin A bestehen. Weil diese Untersuchungen an isoliertem Material und ohne optimale Fixierung der Plastiden vorgenommen wurden, ist die Existenz einer solchen Grundstruktur im lebenden Material anzuzweifeln. — Da keine weiteren elektronenoptischen Untersuchungen an Chromoplasten durchgeführt wurden, fehlt zur Zeit jede Vergleichsmöglichkeit.

## Zusammenfassung

Nach orientierenden elektronenmikroskopischen Voruntersuchungen an den drei klassischen Chromoplastentypen wurde die Feinstruktur der Chromoplasten von *Solanum capsicastrum* und deren Genese aus Chloroplasten untersucht. Mit der Metamorphose ist ein Strukturwechsel verbunden, der in gleicher Weise in den sich rot färbenden Früchten und in den vergilbenden Kelchblättern auftritt, also bei Plastiden, die häufig als Degenerationsstadien aufgefaßt werden. Aus einem Chloroplasten vom *Aspidistra*-Typ entwickelt sich ein nach dem Prinzip des Stäbchenmischkörpers aufgebauter Chromoplast. In ihm sind meist parallel zur Längsachse gelagerte Fibrillen in ein homogenes Stroma eingebettet. Die Plastide ist von einer Membran umgeben und weist ein deutliches Peristromium auf. (Zum selben Typ des fibrillären Chromoplasten gehören übrigens auch die Hagebutten-Chromoplasten.) Bei der Plastidenmetamorphose werden zunächst (im blaßgrünen Übergangsstadium) die Trägerlamellen desorganisiert, was zu einer Verschiebung der Granasäulen und der Scheiben innerhalb der Säulen sowie zum Auftreten von Entmischungstropfen führt. Im gelben, sehr labilen Zwischenstadium

werden auch die Granalamellen aufgelöst. Die beim Umwandlungsprozeß entstandenen osmiophilen Granula beginnen sich darauf zu Fibrillen zu strecken. Die fibrilläre Natur dieser neu auftretenden Struktur läßt sich anhand der Querschnittsbilder und der häufig vorkommenden Überkreuzungen nachweisen. Die Fibrillen sind im fertigen Chromoplasten meist parallel gelagert und bestimmen durch ihre Verlaufsrichtung die Plastidenform. Eine Spindel resultiert bei nur einer vorherrschenden Verlaufsrichtung, ein Polyeder bei mehreren gleichwertigen.

Unter Berücksichtigung der Fibrillenmeßwerte und des polarisationsoptischen Verhaltens der Plastide und isolierter Fibrillenbündel wird unter Benutzung der Haftpunkt- und Globulartheorie eine Erklärung der submikroskopischen Struktur versucht.

## Literatur

BARTELS, F.: Cytologische Studien an Leukoplasten unterirdischer Pflanzenorgane. Planta (Berl.) **45**, 426—454 (1955). — BERNAL, J. D., and D. CROWFOOT: X-ray analysis of pepsin. Nature (Lond.) **133**, 794 (1934). — BESSIS, M., et M. BRICKA: Étude sur l'ultrastructure du protoplasma des thrombocytes au microscope électronique. Biochim. et Biophysica Acta **2**, 339—350 (1948). — Nouvelles études sur les cellules sanguines au microscope électronique. Arch. Anat. microsc. **38**, 190 (1949). — COMAR, C. L.: Chloroplast substance of spinach leaves. Bot. Gaz. **104**, 122—127 (1942). — COURCHET, M.: Recherches sur les chromoleucites. Ann. Sci. natur., Bot. sér. **7**, 263—374 (1888). — CROWFOOT, D.: Crystallized insulin. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. A **164**, 580 (1938). — FREY-WYSSLING, A.: Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate. Berlin: Gebrüder Borntträger 1938. — Submicroscopic morphology of protoplasm, 2. engl. edit. Amsterdam and New York: Elsevier Publ. 1953. — Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. Protoplasmatologia, Bd. II, A 2. Wien: Springer 1955 a. Pflanzenzytologie und Elektronenmikroskop. Endeavour **14**, 34—39 (1955b). — Der Feinbau der Chlorophyllkörper. Umschau **55**, 496—498 (1955c). — FREY-WYSSLING, A., F. RUCH u. X. BERGER: Monotrope Plastiden-Metamorphose. Protoplasma (Wien) **45**, 97—114 (1955). — FREY-WYSSLING, A., u. E. STEINMANN: Ergebnisse der Feinbau-Analyse der Chloroplasten. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **98**, 20—29 (1953). — FRITSCH, P.: Über farbige körnige Stoffe des Zellinhalts. Jb. wiss. Bot. **14**, 185—231 (1883). — GOTTSCHEWSKI, G. M. H.: Über die Anwendungsmöglichkeiten der neuen Leitz-Phasenkontrasteinrichtung mit Kondensor nach HEINE. Z. wiss. Mikrosk. **61**, 185—200 (1953). — GRANICK, M. S.: Plastid structure, development and inheritance. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 1, S. 507—564. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — GRANICK, M. S., and K. R. PORTER: The structure of the spinach chloroplast as interpreted with the electron microscope. Amer. J. Bot. **34**, 545—550 (1947). — GUILLIERMOND, A.: Observations vitales sur le chondriome des végétaux et recherches sur l'origine des chromoplastides et le mode de formation des pigments xanthophylliens et carotiniens. Contribution à l'étude physiologique de la cellule. Rev. gén. Bot. **31**, 372—413, 446—508, 532—603, 635—770 (1919). — HOFMEISTER, W.: Die Lehre von der Pflanzenzelle. Leipzig 1867. — KRAUS, G.: Die Entstehung der Farbstoffkörper in den Beeren von Solanum pseudocapsicum. Jb. wiss. Bot. **8**, 131—147 (1872). — LEYON, H.: The structure of chloroplasts. III. A study of pyrenoids. Exper. Cell. Res. **6**, 479—505 (1954a). — IV. The development and structure of the Aspidistra chloroplast.

Exper. Cell Res. **7**, 265—273 (1954b). — V. The origin of the chloroplast laminae. Exper. Cell Res. **7**, 609—611 (1954c). — The structure of chloroplasts. Svensk kem. Tidskr. **68**, 70—89 (1956). — LEYON, H., u. D. v. WETTSTEIN: Der Chromatophorenfeinbau bei den Phaeophyceen. Z. Naturforsch. **9b**, 471—475 (1954). — MENKE, W.: Über den Feinbau der Chloroplasten. Kolloid-Z. **85**, 256—259 (1938). MENKE, W., u. E. JAKOB: Die Lipoide der Spinatchloroplasten. Hoppe-Seylers Z. **272**, 227—231 (1942). — MEVIUS, W., u. D. DÜVEL: Die Grana-Anordnung im Chloroplasten. Protoplasma (Wien) **42**, 287—290 (1953). — MEYER, A.: Das Chlorophyllkorn in chemischer, morphologischer und biologischer Beziehung. Leipzig: Arthur Felix 1883a. — Über Krystalloide der Trophoplasten und über die Chromoplasten der Angiospermen. Bot. Ztg **41**, 489—498, 505—514, 525—531 (1883b). — Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere, Teil 2. Jena: Gustav Fischer 1926. — MOLISCH, H.: Über vorübergehende Rotfärbung der Chlorophyllkörner in Laubblättern. Ber. dtsch. bot. Ges. **20**, 442—448 (1902). — MÜHLETHALER, K.: Submikroskopische Morphologie. Fortschr. Bot. **18**, 51—57 (1956); **19**, 38—45 (1957a). — Der gegenwärtige Stand der elektronenmikroskopischen Erforschung der Pflanzenzelle. Naturwiss. **44**, 204—213 (1957b). ROBERTS, E. A., and M. D. SOUTHWICK: Contribution of studies with the electron microscope to studies of the relationship of chromoplasts to carotene bodies and carotene bodies to Vitamin A. Plant Physiol. **23**, 621—633 (1948). — ROTHERT, W.: Über Chromoplasten in vegetativen Organen. Bull. Acad. Sci. Cracovie, Ser. B **1912**, 189—335. — Neue Untersuchungen über Chromoplasten. Bull. Acad. Sci. Cracovie, Ser. B **1914**, 1—54. — SAVELLI, R.: Remarques optiques sur les plastes. I. Protoplasma (Wien) **28**, 365—380 (1937). — Remarques optiques sur les plastes. II. Protoplasma (Wien) **29**, 1—8 (1938a). — La photopoièse d'un carotinoid rouge préchlorophyllien dans l'évolution normale et la physiopathologie des chloroplastes d'Aloe. Protoplasma (Wien) **29**, 340—357 (1938b). — Sur la distribution du carotinoide rouge dans les chlorochromoplastes. Protoplasma (Wien) **29**, 601—607 (1938c). — SCHIMPER, A. F. W.: Über die Entstehung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. Bot. Ztg **41**, 105—112, 121—131, 137—146, 153—162 (1883a). — Erwiderung. Bot. Ztg **41**, 809—817 (1883b). — Untersuchungen über die Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde. Jb. wiss. Bot. **16**, 1—247 (1885). — SCHMIDT, W. J.: Polarisationsoptische Analyse des submikroskopischen Baues von Zellen und Geweben. In ABDERHALDENS Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 5, Teil 10, S. 435—665. Berlin u. Wien 1934. — Polarisationsoptische Analyse der Verknüpfung von Protein und Lipoidmolekeln, erläutert am Außenglied der Sehzellen des Wirbeltierauges. Pubbl. Stazz. sool. Napoli **23**, 159—183 (1951). — SISAKJAN, N. H.: Über die Natur des Proteidkomplexes der Plastiden. Uspechi Sovrem. Biol. **36**, 332—345 (1953). — STEFFEN, K., u. F. WALTER: Die submikroskopische Struktur der Chromoplasten. (Die Chromoplasten von Solanum capsicastrum und Rosa canina.) Naturwiss. **42**, 395—396 (1955). — STEINMANN, E., and F. S. SJÖSTRAND: Ultrastructure of chloroplasts. Exper. Cell Res. **8**, 15—23 (1955). — STRAUS, W.: Étude des cristaux, rubans et bâtonnets rouges de la carotte. Helvet. chim. Acta **25**, 705—717 (1942). — Sur la structure des chromatophores de la carotte. Helvet. chim. Acta **26**, 1370—1383 (1943). — Microscopic structure of carrot chromoplasts. Science (Lancaster, Pa.) **112**, 745—748 (1950). — Chromoplasts. Development of crystalline forms, structure, state of the pigment. Bot. Review **19**, 147—186 (1953). — Properties of isolated carrot chromoplasts. Exper. Cell Res. **6**, 392—402 (1954). — STRUGGER, S.: Die Strukturordnung im Chloroplasten. Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 69—83 (1951). — Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Chloroplasten von Chlorophytum comosum. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 177—188 (1956). — STUBBE, W., u. E. v. WETTSTEIN: Zur Struktur erblich verschiedener Chloroplasten von Oenothera.

Protoplasma (Wien) **45**, 241—250 (1955). — Trécul: Des formations vésiculaires dans les cellules végétales. Ann. Sci. natur., Bot. ser 4, 10, 20—74, 127—163, 205—382 (1858). — Walter, F.: Studien zur Präparation pflanzlicher Objekte für die Elektronenmikroskopie in Verbindung mit einer einfachen Methode zur Herstellung von Dünnschnitten. Z. wiss. Mikrosk. **63**, 227—235 (1957). — Weier, T. E., and C. R. Stocking: The chloroplast: structure, inheritance and enzymology II. Bot. Review **18**, 14—75 (1952). — Weiss, A.: Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte des Farbstoffes in Pflanzenzellen. I. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **50**, 6—35 (1864). — II. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. **54**, 157—217 (1866). — Wettstein, D. v.: Genetics and the submicroscopic cytology of plastids. Hereditas (Lund) **43**, 303—317 (1957a). — Chlorophyll-Letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. Exper. Cell Res. **12**, 427—506 (1957b). — Yemm, E. W., and B. F. Folkes: The amino acids of cytoplasmic and chloroplastic proteins of barley. Biochemic. J. **55**, 700—707 (1953). — Zurzycki, J.: Studies on chromoplasts. I. Morphological changes of plastids in the ripening fruit. Acta Soc. Bot. Polon. **23**, 161—174 (1954).

Prof. Dr. Kurt Steffen,
Pharmakognostisches Institut der Technischen Hochschule, Braunschweig, Pockelstr. 4

Dr. Friedrich Walter,
Mikrolaboratorium der Optischen Werke Ernst Leitz GmbH, Wetzlar

Planta, Bd. 50, S. 671—700 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig

# ÜBER AUFNAHME UND BINDUNG VON WASSER UND ANELEKTROLYTEN DURCH DIATOMEEN-ZELLEN *

Von

GERHARD FOLLMANN

Mit 10 Textabbildungen

*(Eingegangen am 10. Oktober 1957)*

## A. Einleitung

Wie GROSS (1940) zeigte, verhalten sich manche Diatomeenzellen *nicht* wie osmotische Systeme. In Übereinstimmung damit fanden BOGEN und FOLLMANN (1955) bei der Untersuchung der Aufnahme von Wasser und Anelektrolyten von Diatomeen, daß diese bei *Melosira*-Arten mindestens vierfach zusammengesetzt ist. Neben meta- bzw. nichtosmotische (physiologische) und osmotische (permeatorische) Wasseraufnahme treten osmotische und nichtosmotische Aufnahme zellfremder Anelektrolyte (zur Definition: BOGEN 1951).

Bei den bisherigen Untersuchungen konnten jedoch die Fragen nach den Mechanismen der meta- und nichtosmotischen Stoffaufnahmeprozesse und ihren Korrelationen zu bestimmten Stoffwechselvorgängen, nach den physikalischen und chemischen Grundlagen der nichtosmotischen Wasser- und Anelektrolytbindung in der Vacuole und der Beeinflussung der verschiedenen osmotischen und nichtosmotischen Komponenten der Stoffaufnahme untereinander nicht befriedigend gelöst werden. Ihre Beantwortung erscheint aber desto dringlicher, als sich in letzter Zeit die Befunde über das Bestehen aktiver Stoffaufnahmevorgänge auch bezüglich Pflanzenzellen laufend mehren (letzte Zusammenfassungen: BOGEN 1954, 1956b, 1956c, ROTHSTEIN 1954).

Wir setzten deshalb unsere Versuche unter Einbeziehung weiterer Untersuchungsmethoden fort. Gleichzeitig gaben wir ihnen mit der Ausdehnung auf neue Arten eine breitere Grundlage. Unser Ziel lag dabei vornehmlich in der Charakterisierung und Trennung der verschiedenen Anelektrolyt- und Wasseraufnahmevorgänge durch Stoffwechselinhibitoren im Plasmolyse- und Osmometerversuch, der Analyse der Wasserbindungsverhältnisse durch Austrocknungsversuche und der Aufklärung der Beziehungen der Anelektrolytaufnahme und -bindung zum Reservestoffwechsel der Diatomeenzelle.

* Dissertation der Naturwissenschaftlich-Philosophischen Fakultät der Technischen Hochschule Braunschweig. Der Verfasser ist seinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. H. J. BOGEN, für die Überlassung des Themas und stetes Interesse am Fortgang der Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

## B. Objekte[1]

### *I. Zentrische Arten*

*a) Guinardia blavyana* PERAGALLO, eine neritische Art des Mittelmeeres. Die untersuchten Zellen aus den Adria-Küstengewässern um Split lebten fast ausschließlich einzeln.

*b) Leptocylindrus adriaticus* SCHROEDER, eine Charakterart der nördlichen Adria, die in dicht geschlossenen, langen Ketten vorkommt. Das untersuchte Material stammte ausschließlich aus der Bucht von Kaštela bei Split.

*c) Melosira arenaria* MOORE, eine besonders große Litoralart der europäischen Süßwasserseen, Flüsse und Gräben. Unser Material stammte von überrieseltem Basalttuff im Park Wilhelmshöhe bei Kassel und von sandigen Fulda-Uferstellen bei Bergshausen.

*d) Melosira varians* AGARDH, mit dem Hauptverbreitungsgebiet im Litoral der eutrophen Seen, Teiche, Flüsse und Gräben, seltener im Plankton. Das gesamte Untersuchungsmaterial stammte aus den stehenden und fließenden Gewässern des Parkes Wilhelmshöhe bei Kassel.

*e) Rhizosolenia stolterfothii* PERAGALLO, eine perennierende, neritische Art der Küstengebiete Europas. Die untersuchten Exemplare stammten aus den Gewässern nördlich von Split.

### *II. Pennate Arten*

*a) Achnanthes lanceolata* BREBISSON var. *rostrata* HUSTEDT, eine häufige Süßwasserform. Unser Material stammte aus den langsam fließenden Gewässern des Parkes Wilhelmshöhe bei Kassel.

*b) Fragilaria hyalina* (KUETZ.) GRUNOW, eine epilithisch und epiphytisch vorkommende litorale Meeresart. Die untersuchten Exemplare stammten sämtlich aus der Bucht von Kaštela bei Split.

*c) Gomphonema constrictum* EHRENBERG var. *capitata* (EHR.) CLEVE, eine häufige koloniebildende Süßwasserform. Das Untersuchungsmaterial stammte aus einer Salzquelle in der Asse bei Braunschweig.

*d) Grammatophora marina* (LYNGB.) KUETZING var. *adriatica* GRUNOW, eine adriatische Litoralform, die wir besonders häufig epiphytisch auf verschiedenen *Cystosira*-Arten in der Kaštela-Bucht bei Split fanden.

Ausführliche systematische und ökologische Angaben finden sich bei HUSTEDT (1930a, 1930b) und KOLBE (1932).

## C. Methodik[2]

### *I. Objektgewinnung*

Die Süßwasserarten wurden mit Gazenetzen (Nr. 20) eingesammelt, bzw. mit Hornspateln aufgenommen. Für Leukosin- und Fettbestimmungen wurde *Melosira varians* mit Kupfersieben (Maschenweite: 0,5 mm) gewonnen, unter dem

[1] Für die freundlichst erteilte Erlaubnis zur Benutzung der Sammlung und Bibliothek G. KRASSKES zu den Determinationsarbeiten im Städt. Naturkunde-Museum zu Kassel sei auch an dieser Stelle Herrn Direktor H. SCHULZ verbindlich gedankt.

[2] Wir möchten nicht versäumen, Herrn Direktor Dr. M. BULJAN (Split) für großzügige Unterstützung bei den am Institut für Meeresforschung und Fischereiwesen der Föderativen Volksrepublik Jugoslawien ausgeführten Untersuchungen, der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Bad Godesberg) für Sachbeihilfen und der Firma *C. Beck* (Kassel), die Mikroskope und optisches Spezialzubehör zur Verfügung stellte, bestens zu danken.

Binokular von Fremdkörpern befreit (Detritus < 1,0 Vol.-%) und unmittelbar in die Versuchslösungen überführt.

Die marinen Planktonarten wurden mit Oberflächennetzen (Nr. 25) in Tiefen von 3—4 m täglich frisch gewonnen. Die marinen Aufwuchsformen wurden mit dem Substrat eingesammelt. Sie wurden an kühlen und schattigen Orten in oft gewechseltem filtriertem und sterilisiertem Standortwasser gehalten.

### *II. Anreicherungskulturen*

Diese wurden von *Gomphonema constrictum* var. *capitata*, *Melosira arenaria* und *Melosira varians* in der von Bogen und Follmann (1955) beschriebenen Weise angelegt.

### *III. Messung des osmotischen Wertes und der Stoffaufnahme*

**1. Grenzplasmolyse-Methode.** Die osmotischen Werte wurden nach der von Bogen und Follmann (1955) für die Diatomeen-Untersuchung modifizierten Fittingschen Methode (1915, 1917) bestimmt (Genauigkeit: 0,001 M). Die Berechnung der relativen und absoluten Permeationskonstanten erfolgte nach Collander und Bärlund (1933). Bei den fädigen Formen wurden die Endzellen unberücksichtigt gelassen, da bei ihnen gelegentlich Wund-Reizplasmolyse auftrat.

**2. Deplasmolysezeit-Methode.** In Fällen, wo wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung stand oder umfangreiches Material schnell bearbeitet werden mußte, wandten wir die Deplasmolysezeit-Methode Hofmeisters (1948) an. Dabei wurde der osmotische Wert der Zellen in einer Saccharosereihe bestimmt und die Deplasmolysezeit bei Anwendung verschiedener Außenkonzentrationen der Diosmotica festgestellt (Toleranz: 0,002 M). Im Gegensatz zu Hofmeister (1948) wurde die Methode statistisch angewandt. Als Deplasmolysezeit legten wir den Zeitpunkt fest, zu dem die Hälfte von 10 beobachteten Zellen Grenzplasmolyse zeigte. Dadurch wurde eine Fehlerquelle der Hofmeisterschen Methode umgangen, wonach als Deplasmolysezeit diejenige angenommen wird, „wo die Protoplasten nahezu, aber noch nicht völlig zurückgedehnt sind". Permeationskonstanten, die nach der Grenzplasmolyse- und Deplasmolysezeit-Methode bestimmt wurden, wichen durchschnittlich um 5,1% voneinander ab.

**3. Osmometer-Methode.** *a) Preßsaft-Gewinnung.* Hierzu diente teilweise die von Bogen und Follmann (1955) beschriebene Methode, außerdem Auspressen des Versuchsmaterials in einem Stahlzylinder mit Stempel und unmittelbares Absaugen des aufsteigenden Preßsaftes mit der Mikropipette. Mit Ausnahme der Bestimmungen des ursprünglichen osmotischen Wertes wurden alle Zellen im Zustand der Grenzplasmolyse ausgepreßt. Deshalb wurde das Versuchsmaterial lediglich durch Absaugen von der anhaftenden Versuchslösung befreit. Spülen mit Standortwasser oder Nährlösung wurde zum Ausschluß von Exosmoseerscheinungen vermieden.

*b) Bestimmung der realen osmotischen Werte* mit dem Hinzpeter-Osmometer (1952a). Für eine Messung wurden 0,1 $cm^3$ Preßsaft benötigt. Unser Gerät arbeitete bei graphischer Ermittlung der Endwerte mit einer Genauigkeit von 0,002 M. Die mit diesem Verfahren gewonnenen Ergebnisse bestätigten unsere Erfahrungen mit der Bargerschen Capillarmethode (Bogen und Follmann 1955). Insofern sind die Besorgnisse Hubers und Bauers (1955) um die Sicherheit unserer Messungen unbegründet (Hinzpeter 1952b).

*c) Permeationskonstanten* wurden formal unter Austausch der osmotischen Werte bei Grenzplasmolyse gegen die realen osmotischen Werte nach Collander und Bärlund (1933) ermittelt.

**4. Theoretische Permeationskonstanten** wurden aus den absoluten Permeationskonstanten für Malonamid anhand der Konstanten a und b nach BOGEN (1950) berechnet.

### *IV. Austrocknungsversuche*

0,75—0,50 g flüchtig abgetrockneter Algen wurden mit feinem und weichem Pinsel in Einzellschicht auf Deckgläser (24 × 50 mm) ausgebreitet, von der anhaftenden Versuchslösung mit Filtrierpapier großenteils befreit und auf einer im Thermostaten bei 20° C ± 0,5° gehaltenen Torsionswage (Empfindlichkeit: 0,1 mg) ausgewogen. Der Gewichtsverlust wurde jede Minute registriert. Nach Erreichen der Gewichtskonstanz bei 20° C wurde auf 80° C erhitzt und erneut die Wasserabgabe ermittelt.

### *V. Leukosin-Rohbestimmungen*

Diese wurden nach einer von V. STOSCH (1951) beschriebenen Methode ausgeführt, die wir folgendermaßen abwandelten: Das in überhitztem Wasserdampf abgetötete und bei 120° C getrocknete, anschließend zerriebene Untersuchungsmaterial wurde mit reichlich 30° C warmem 50% Äthylalkohol aufgeschlämmt, 3 h ausgeschüttelt und abzentrifugiert. Der Rückstand wurde erneut ausgeschüttelt und wiederum abzentrifugiert. Beide Lösungen wurden vereinigt, mit einer Spatelspitze Natriumcarbonat versetzt, durchgeschüttelt und über Nacht stehengelassen. Das langsam ausfallende Leukosin wurde abzentrifugiert und gravimetrisch bestimmt. Der Leukosingehalt wurde in Prozent der Trockensubstanz angegeben. Dieses Verfahren arbeitet nicht streng quantitativ. Es liefert außerdem kein reines Leukosin. Im Rückstand ließen sich jedoch keine nennenswerten Polysaccharidmengen mehr nachweisen und das Abscheidungsprodukt bestand zu 87—95% aus Polyglucosanen. Diese Genauigkeit war für unsere Versuche ausreichend, da die gesicherten Differenzen der Ergebnisse verhältnismäßig hoch liegen (Tab. 1).

### *VI. Fett-Extraktionen*

Die Trockensubstanz wurde 10 h in Soxleth-Apparaten mit Äthyläther extrahiert. Verreiben mit Quarzsand erwies sich der Kieselschalen halber als unnötig. Der Ätherextrakt wurde in Prozenten der Trockenmasse angegeben.

### *VII. Versuchslösungen*

Sämtliche Lösungen wurden zur Vermeidung unbeabsichtigter Effekte mit filtriertem und sterilisiertem Standortwasser angesetzt. Die Molarität der Giftzusätze wurde bei der Einwage der Diosmotika berücksichtigt. Ihre Dissoziation wurde vernachlässigt. Die osmotischen Werte der Saccharoselösungen wurden nach URSPRUNG (1939) korrigiert. Verderbliche Lösungen wurden täglich frisch bereitet.

### *VIII. Statistische Auswertung*

Wir bestimmten die Streuung sämtlicher Versuchsergebnisse (Tab. 1).

In die graphischen Darstellungen und Tabellen wurde sie aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht eingetragen. Die Differenzen der Ergebnisse der Plasmolyse- und Austrocknungsversuche sind mehrfach nicht gut gesichert. Sie können aber trotzdem als signifikant bezeichnet werden, da die Einzelwerte durchgehend steigende bzw. fallende Tendenz aufweisen.

Tabelle 1. *Fehlergrenzen der vorliegenden Versuchsergebnisse*

| Art des Versuches | Anzahl der Parallelbestimmungen ($n$) | Streuung ($\sigma$) | Art des Versuches | Anzahl der Parallelbestimmungen ($n$) | Streuung ($\sigma$) |
|---|---|---|---|---|---|
| Grenzplasmolyse-Versuche | | | Austrocknungs-Versuche | | |
| Kontrollversuche . . . | 10—15 | ±5,1% | Kontrollversuche . . . | 20 | ±6,7% |
| Hemmversuche . . . . | | ±7,9% | Hemmversuche . . . . | | ±5,1% |
| Deplasmolysezeit-Versuche | | | Leukosin-Bestimmungen | | |
| Kontrollversuche . . . | 15—25 | ±4,8% | Kontrollversuche . . . | 5 | ±1,4% |
| Hemmversuche . . . . | | ±9,5% | Hemmversuche . . . . | | ±2,9% |
| Osmometer-Versuche | | | Fett-Extraktionen | | |
| Kontrollversuche . . . | 3—5 | ±3,9% | Kontrollversuche . . . | 5 | ±0,8% |
| Hemmversuche . . . . | | ±3,2% | Hemmversuche . . . . | | ±1,3% |

## *IX. Verwendete Substanzen*

Acetamid: Fluka, rein
Äthylenglykol: Merck, für wissenschaftliche Zwecke
2,4-Dinitrophenol: Riedel de Haën, ohne Angabe des Reinheitsgrades
Dextrose: Dextropur, nach DAB 6
Erythrit: Fluka, rein
Glycerin: Merck, rein
Harnstoff: Merck, reinst
Indol-3-essigsäure: Merck, ohne Angabe des Reinheitsgrades
Kaliumcyanid: Merck, zur Analyse
Malonamid: Schuchardt, für wissenschaftliche Zwecke
Methylharnstoff: Schering, für wissenschaftliche Zwecke
Natriumarsenit: Kehr, rein
Natriumazid: Merck, zur Analyse
Natriumcarbonat: Merck, entwässert
Natriumphosphat, sekundär: Merck, nach SÖRENSEN
Natronwasserglas: handelsüblich
Polyäthylenglykol (MG 200): Fluka, ohne Angabe des Reinheitsgrades
Polyäthylenglykol (MG 400): Fluka, ohne Angabe des Reinheitsgrades
Saccharose: handelsüblich

## *X. Abkürzungen*

DNP = 2,4-Dinitrophenol
DZM = Deplasmolysezeit-Methode
GPM = Grenzplasmolyse-Methode
IES = Indol-3-Essigsäure
M = mol/l
$O_g$-Wert = osmotischer Wert bei Grenzplasmolyse
$O_r$-Wert = osmotischer Wert nach Osmometerbestimmung
PK = Permeationskonstante
PR = Permeabilitätsreihe

## D. Ergebnisse

### *I. Osmotische Werte*

**1. Plasmolytische Untersuchungen** mit Saccharoselösungen zeigten das in Tabelle 2 zusammengefaßte Ergebnis. Demnach verhalten sich verschiedene Diatomeenarten nicht einheitlich. Die meisten (Nr. 1—8) zeigten verhältnismäßig *schnellen Plasmolyserückgang*, während der entsprechende $O_g$-Wert nur einer Art im Laufe des Versuchs lediglich

Tabelle 2. *Die in Saccharoselösungen bestimmten osmotischen Werte bei Grenzplasmolyse von 9 Diatomeenarten im Kontroll- und Hemmversuch.* (Es handelt sich jeweils um Überwerte über das betreffende Medium. Dies fällt besonders bei der Beurteilung der $O_g$-Werte mariner Arten ins Gewicht)

| Art | $O_g$-Wert (M) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Minima | | | Maxima | | |
| | Versuchszeit (min) | Kontrolle | $NaN_3$-Zusatz ($10^{-2}$ M) | Versuchszeit (min) | Kontrolle | $NaN_3$-Zusatz ($10^{-2}$ M) |
| 1. *Fragilaria hyalina* . . . . . | 5 | 0,091 | 0,082 | 1440 | 0,114 | 0,090 |
| 2. *Guinardia blavyana* . . . . . | 10 | 0,512 | 0,393 | 2880 | 0,763 | 0,452 |
| 3. *Melosira arenaria* . . . . . | 18 | 0,334 | 0,266 | 2880 | 0,601 | 0,303 |
| 4. *Melosira varians*[1] . . . . . | 15 | 0,248 | 0,197 | 1440 | 0,400 | 0,210 |
| 5. *Rhizosolenia stolterfothii* . . . | 5 | 0,070 | 0,050 | 1440 | 0,284 | 0,095 |
| 6. *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* . . . . . | 0,5 | 0,114 | 0,112 | 60 | 1,956 | 0,202 |
| 7. *Gomphonema constrictum* var. *capitata* . . . . . | 2 | 0,185 | 0,203 | 60 | 1,659 | 0,211 |
| 8. *Grammatophora marina* var. *adriatica* . . . . . | 1 | 0,099 | 0,092 | 1440 | 0,124 | 0,095 |
| 9. *Leptocylindrus adriaticus* . . . | 20 | 0,465 | 0,463 | 1440 | 0,502 | 0,510 |

[1] Nach BOGEN und FOLLMANN (1955).

geringfügig zunahm. Die $O_g$-Werte der ersten Gruppe ließen sich außerdem durch Stoffwechselgifte wie DNP, $NaN_3$ und $Na_2AsO_3$ stimulieren (in Tab. 2 aus Übersichtlichkeitsgründen nur für $NaN_3$ eingetragen), die der zweiten nicht. Die erste Gruppe läßt sich noch einmal unterteilen in Arten, deren $O_g$-Werte durch die genannten Stoffwechselinhibitoren unmittelbar herabgesetzt werden können (Nr. 1—5), und solche, deren $O_g$-Werte sich erst nach längerer Versuchsdauer unter ihrem Einfluß ändern (Nr. 6—8). Darüber hinaus zeigt Tabelle 2, daß das $O_g$-Spektrum der Diatomeen mit einer Variation von 0,070—1,956 M eine ungewöhnliche Breite besitzt (vgl. WALTER 1931; anschließende systematische und ökologische Fragen können hier nicht behandelt werden).

Die aus diesen Beobachtungen folgenden Konsequenzen sind von BOGEN und FOLLMANN (1955) eingehend dargestellt worden. Sie können

deshalb hier nur gestreift werden: Die Rückdehnung der Protoplasten von Pflanzenzellen nach Plasmolyse in hypertonischen Anelektrolytlösungen und die entsprechende Zunahme ihrer $O_g$-Werte wurde bis vor kurzem auf Permeation der betreffenden Stoffe in die Zelle zurückgeführt (letzte Zusammenfassungen: Höfler 1956, Collander 1957). Diese Annahme führte im Falle der Diatomeen zur Aufstellung eines „Zuckertyps der Permeabilität" (Höfler 1940), da sie häufig in Saccharoselösungen unverhältnismäßig hohe Deplasmolysegeschwindigkeit zeigen (Marklund 1936, Elo 1937, Höfler 1943). Nach neueren Untersuchungen kann jedoch der plasmolytisch erfaßte osmotische Wert einer Zelle nicht von vornherein als realer osmotischer Wert aufgefaßt werden. Er ist häufig durch *metaosmotische und aktive Stoffaufnahme-und-bindungsvorgänge*, insbesondere von Wasseraufnahme, überlagert und erscheint dadurch im plasmolytischen Versuch überhöht (Bogen 1953, 1956c, Bogen und Follmann 1955, Prell 1955a).

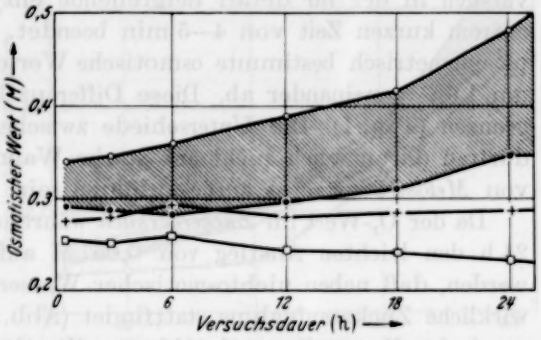


Abb. 1. Vergleich grenzplasmolytisch und osmometrisch ermittelter osmotischer Werte von *Melosira arenaria* Moore in Saccharoselösungen. (o = grenzplasmolytisch bestimmter Kontrollwert; ● = osmometrisch bestimmter Kontrollwert; + = nach $NaN_3$-Behandlung grenzplasmolytisch bestimmter osmotischer Wert; □ = nach $NaN_3$-Behandlung osmometrisch ermittelter osmotischer Wert; schraffiert = Differenz des $O_g$- und $O_r$-Wertes im Kontrollversuch; $NaN_3$-Konzentration: $10^{-2}$ M)

Dies ist zumindest auch bei den von uns untersuchten Diatomeenarten der Fall, deren $O_g$-Werte sich durch Stoffwechselgifte verändern lassen (Tab. 2). Die Diskrepanz von $O_g$- und $O_r$-Werten wird besonders deutlich, wenn man plasmolytisch (an der lebenden Einzelzelle) und osmotisch (statistisch aus dem Preßsaft sehr vieler Zellen) gewonnene osmotische Werte miteinander vergleicht.

**2. Osmometrische Untersuchungen.** Derartige Messungen konnten des starken Verbrauchs an Versuchsmaterial halber nur an *Melosira arenaria* für Saccharose und Harnstoff vorgenommen werden (Abb. 1, 2). Demnach entspricht der mittels Osmometer bestimmte $O_r$-Wert in keinem Falle dem plasmolytisch ermittelten $O_g$-Wert. Die Tatsache, daß er durchgehend *unter* dem $O_g$-Wert liegt, kann folgendermaßen interpretiert werden: In der grenzplasmolysierten Zelle befindet sich eine beträchtliche Menge unter Aufwand von Stoffwechselenergie gebundenen Wassers (Bogen 1956a). Beim Preßvorgang erlischt die Energiezufuhr. Die für die Wasserspeicherung verantwortlichen labilen Vacuolenkolloide

werden denaturiert und ihr Hydratationswasser „verdünnt" den Preßsaft. Folgerichtig muß der $O_r$-Wert niedriger liegen. Eine andere Erklärungsmöglichkeit stellt der Umbau von osmotisch wirksamen niedermolekularen Zellbestandteilen in osmotisch unwirksame höhermolekulare während und nach dem Auspressen dar. Dagegen ist jedoch einzuwenden, daß bei der Nekrobiose der Zelle eher mit dem Auftreten von niedermolekularen Stoffen zu rechnen ist, die sich vorher in lockerer Bindung an plasmatischen oder vacuolären Strukturen befanden (LEPESCHKIN 1937). Außerdem sind Preßvorgang und Osmometerversuch in der für derart tiefgreifende enzymatische Umwandlungen extrem kurzen Zeit von 4—5 min beendet. Grenzplasmolytisch und plasmometrisch bestimmte osmotische Werte weichen durchschnittlich um 1,9% voneinander ab. Diese Differenz liegt innerhalb der Fehlergrenzen (Tab. 1). Die Unterschiede zwischen den $O_g$- und $O_r$-Werten dürften darum auch nicht auf starke Wandhaftung der Protoplasten von *Melosira arenaria* zurückzuführen sein (SCHAEFER 1956).

Da der $O_r$-Wert im *Zuckerversuch* während einer Versuchsdauer von 24 h den leichten Anstieg von 0,057 M aufweist, kann angenommen werden, daß neben nichtosmotischer Wasseraufnahme auch noch eine wirkliche Zuckeraufnahme stattfindet (Abb. 1). Ähnliche Verhältnisse ergab der *Harnstoffversuch* (Abb. 2). Hier läuft anscheinend die nichtosmotische Wasseraufnahme zunächst schneller als die Harnstoffaufnahme ab. Sie wird nach 60—90 min jedoch wieder eingeholt. Die Unterschiede der $O_g$- und $O_r$-Werte lassen sich während dieses Versuchsabschnittes nicht mehr sichern. Nach 2 h läßt jedoch die Aufnahme osmotisch wirksamer Substanz wieder nach, und die nichtosmotische Wasseraufnahme gewinnt erneut einen „Vorsprung". Dieser Befund führt zu dem Schluß, daß auch die Harnstoffaufnahme bei *Melosira arenaria* nicht ausschließlich auf osmotischem Wege erfolgt, denn Permeationsmechanismen können nicht nennenswert von der gegen Versuchsende notwendigen stärkeren Konzentration des Diosmoticums abhängig sein, wohl aber nichtosmotische Transportmechanismen: etwa durch Aktivitätsminderung von Mitochondrien-Fermentsystemen infolge hypertonischer Außenlösung (LATIES 1954, TAFT und LEVITT 1957). Da die nichtosmotische Wasseraufnahme dagegen ungehindert, sogar forciert ablaufen kann, liegt die Annahme nahe, daß ihr und der Harnstoffaufnahme gesonderte Mechanismen zugrunde liegen.

Weitere Aufschlüsselung dieser Beobachtungen ist durch Versuche mit Stoffwechselinhibitoren möglich: Durch $NaN_3$ wird im Zuckerversuch die nichtosmotische Wasseraufnahme stark gehemmt. Da die erhaltenen $O_g$-Werte jedoch unter den $O_r$-Werten des Kontrollversuchs liegen (Abb. 1), kann angenommen werden, daß auch die geringfügige wirkliche *Zuckeraufnahme auf nichtosmotischem Wege* erfolgt. Sie scheint

jedoch erst nach 6 h Versuchsdauer einzusetzen. Dies läßt analog den Harnstoffversuchen den Schluß zu, daß nichtosmotische Zucker- und Wasseraufnahme getrennten Aufnahmearten folgen. Der Harnstoffversuch zeigt im wesentlichen das gleiche Bild (Abb. 2). Gegen Versuchsende nähern sich die unter $NaN_3$-Einwirkung bestimmten $O_g$- und $O_r$-Werte und der $O_r$-Wert im Kontrollversuch. Demnach besitzt die Hemmung der Harnstoffaufnahme durch stärkere Versuchskonzentration im Kontrollversuch und diejenige durch $NaN_3$ im Vergiftungsversuch annähernd gleiche Größe.

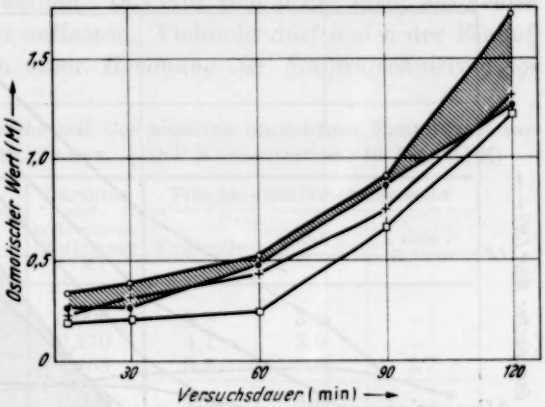


Abb. 2. Vergleich grenzplasmolytisch und osmometrisch ermittelter osmotischer Werte von *Melosira arenaria* Moore in Harnstofflösungen. (○ = grenzplasmolytisch bestimmter Kontrollwert; ● = plasmometrisch bestimmter Kontrollwert; + = nach $NaN_3$-Behandlung grenzplasmolytisch bestimmter osmotischer Wert; □ = nach $NaN_3$-Behandlung osmometrisch bestimmter osmotischer Wert; schraffiert = Differenz des $O_g$- und $O_r$-Wertes im Kontrollversuch; $NaN_3$-Konzentration: $10^{-2}$ M)

Wider Erwarten stimmen aber die unter $NaN_3$-Einfluß ermittelten $O_g$-Werte nicht mit den $O_r$-Werten im $NaN_3$-Versuch überein, sondern liegen bis zu 25% über ihnen (Abb. 1, 2). Danach kann der Verlauf der Kurven der osmotischen Werte im Zuckerversuch dahingehend interpretiert werden, daß $NaN_3$ auch in stärksten Gaben die nichtosmotische Wasserbindung der grenzplasmolysierten Diatomeenzelle nicht restlos aufzuheben vermag, während die aktive Zuckeraufnahme restlos unterbunden wird. Anders im Harnstoffversuch: Auch dort sind für 1 h alle Aufnahmevorgänge gehemmt, doch setzt dann eine kontinuierliche Harnstoffaufnahme ein. Gegen Versuchsende wird dadurch der $O_g$-Vergleichswert nahezu erreicht.

Wollte man der Harnstoffaufnahme durchgehend osmotischen Charakter zuschreiben, so müßte man eine zeitlich begrenzte Permeabilitätsherabsetzung durch $NaN_3$ annehmen. Über permeabilitätsmindernde Eigenschaften von $NaN_3$ und den übrigen bei unseren Versuchen benutzten Stoffwechselgiften ist jedoch bislang nichts bekannt geworden (Bogen 1953). Es kann deshalb angenommen werden, daß *Melosira arenaria* Harnstoff fast ausschließlich nichtosmotisch aufnimmt. Die Harnstoffaufnahme-Mechanismen dürften ihrerseits wiederum komplexer Natur sein. Sie lassen sich nach den geschilderten Versuchen als *$NaN_3$-empfindliche und $NaN_3$-unempfindliche Komponente* unterscheiden.

Die letzte vermag — vielleicht nach Anlaufen von Restitutionsvorgängen — erst nach längerer Versuchsdauer wirksam zu werden. Dieser Befund steht im Einklang mit Ergebnissen PRELLs (1955b) über die Harnstoffaufnahme höherer Pflanzen.

Analoge Versuche mit DNP ($10^{-3}$ M) und $Na_2AsO_3$ ($10^{-4}$ M) fielen ähnlich aus. Die Hemmung der nichtosmotischen Wasser- und Anelektrolytaufnahme betrug bei DNP durchschnittlich 83% und $Na_2AsO_3$ 71%

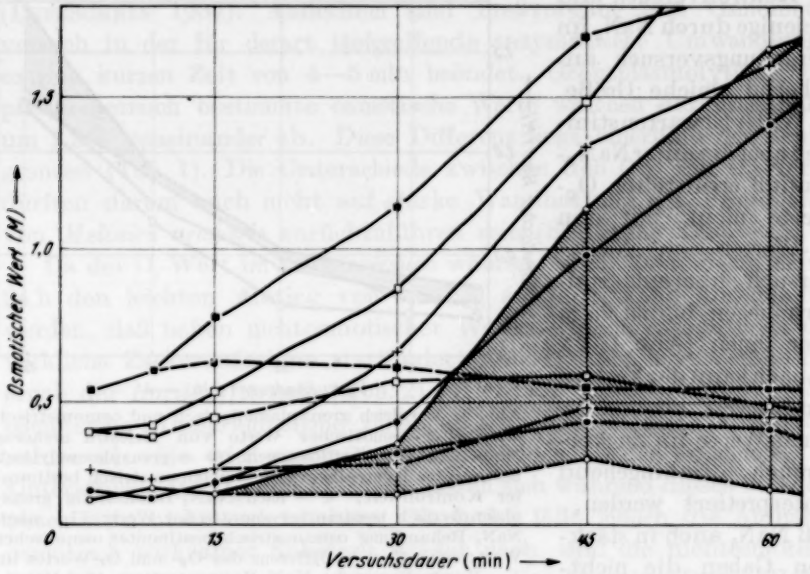


Abb. 3. Plasmolytisch ermittelte osmotische Werte von *Gomphonema constrictum* EHRENBERG var. *capitata* (EHR.) CLEVE im Kontroll- und Hemmversuch mit 2,4-Dinitrophenol. (○ = Saccharosekurven; ● = Malonamidkurven; + = Harnstoffkurven; □ = Äthylenglykolkurven; ■ = Propionamidkurven; ——— = Kontrollversuche; — — — = Hemmversuche mit DNP $10^{-3}$ M; schraffiert = Differenz der $O_E$-Werte im Kontroll- und Hemmversuch mit Saccharose)

des $NaN_3$-Effektes. KCN ($10^{-4}$, $10^{-5}$ M) zeigte dagegen keine gesicherte Wirkung. Das gleiche gilt für IES ($10^{-4}$—$10^{-5}$ M). Im Plasmolyseversuch verhielten sich ähnlich wie *Melosira arenaria: Melosira varians* (BOGEN und FOLLMANN 1955), *Guinardia blavyana*, *Rhizosolenia stolterfothii*, *Fragilaria hyalina* und *Grammatophora marina* var. *adriatica*, also im wesentlichen die in Tabelle 2 als erste Gruppe zusammengefaßten Arten. Die beobachteten Vorgänge dürften demnach *allgemeinere Verbreitung* besitzen.

Abweichendes Verhalten zeigten dagegen *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* und *Gomphonema constrictum* var. *capitata* (Abb. 3). Die letztgenannte Art nimmt innerhalb 1 h scheinbar den extrem hohen Betrag von 1,45 M Saccharose auf. Außerdem erscheinen die Kurven der

$O_g$-Werte der sonst durchweg schneller eindringenden Anelektrolyte der Saccharosekurve stark genähert. Dies ist besonders augenfällig beim Propionamid (Abb. 3). Malonamid scheint zum Teil langsamer aufgenommen zu werden als Rohrzucker. Nach Abb. 3 läßt sich bei *Gomphonema constrictum* var. *capitata* jedoch die gesamte Anelektrolytaufnahme durch DNP ($10^{-3}$ M) unterbinden.

Auffällig ist die Tatsache, daß die ursprünglichen $O_g$-Werte durch DNP nicht herabgesetzt werden. Das läßt sich sicher nicht als Fehlen aktiv gebundenen Wassers auffassen. Vielmehr dürfte sich der Einfluß des DNP hier primär in einer *Hemmung der Stoffaufnahmevorgänge*

Tabelle 3. *Austrocknungsversuche mit Gomphonema constrictum* Ehrenberg *var. capitata* (Ehr.) Cleve. (DNP-Konzentration: $10^{-3}$ M, GPM)

| Diosmoticum | Versuchsdauer (min) | Scheinbar aufgenommene Stoffmenge (M) | Frischgewicht/Trockengewicht | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Kontrolle | DNP-Versuch | tote Zellen |
| Saccharose | 5 | 0,000 | 3,9 | 3,7 | — |
| | 30 | 0,170 | 4,1 | 3,9 | — |
| | 60 | 1,455 | 3,8 | 3,9 | 2,7 |
| Harnstoff | 5 | 0,000 | 4,2 | 4,0 | — |
| | 30 | 0,390 | 4,3 | 4,2 | — |
| | 60 | 1,337 | 3,9 | 4,1 | 2,1 |
| Propionamid | 5 | 0,000 | 4,4 | 4,2 | — |
| | 30 | 0,607 | 4,1 | 3,8 | — |
| | 60 | 1,683 | 3,8 | 3,9 | 3,1 |

geltend machen, während die Akkumulation bereits gebundenen Wassers unbeeinflußt bleibt. Ähnliche Verhältnisse fanden sich auch bei mehreren reizempfindlichen Diatomeenarten (Follmann 1955, 1957a).

Die in Tabelle 3 zusammengefaßten Ergebnisse von Austrocknungsversuchen geben ebenfalls einen Hinweis darauf, daß die im Kontrollversuch in Erscheinung tretende extrem hohe Anelektrolytaufnahmerate wiederum durch *nichtosmotische Wasseraufnahme* vorgetäuscht wird. Ein Beispiel mag die Verhältnisse erläutern: Wenn die Zellen innerhalb 1 h tatsächlich 1,45 M Saccharose aufgenommen hätten (Abb. 3), so müßte sich das Verhältnis Frischgewicht/Trockengewicht unbehandelter Zellen wägbar von dem DNP-behandelter unterscheiden. Die Verhältniszahlen schwankten jedoch nur im Rahmen der Fehlergrenzen. Mit dem Diosmoticum infiltrierte tote Zellen zeigten dagegen eine meßbare Zunahme des Trockengewichtes (Tab. 3).

Demnach kann man bei Diatomeen zwischen

1. Arten mit vorwiegend osmotischer Anelektrolyt- und Wasseraufnahme (Beispiel: *Leptocylindrus adriaticus*, Follmann 1956),

2. Arten mit vorwiegend nichtosmotischer Stoffaufnahme (Beispiel: *Gomphonema constrictum* var. *capitata*) und

3. Arten mit osmotischer und nichtosmotischer Stoffaufnahme (Beispiel: *Melosira varians*, BOGEN und FOLLMANN 1955) unterscheiden. Innerhalb einzelner Arten ist das Stoffaufnahmeverhalten ebenfalls nicht einheitlich, denn die Auxosporen zentrischer Formen, deren vegetative Zellen sich durch osmotische und nichtosmotische Anelektrolytaufnahme auszeichnen, können ausschließlich aktive Stoffaufnahmeeigenschaften zeigen (FOLLMANN 1957b). Auch aus diesem Grunde ist also die Aufstellung eines einheitlichen „Zuckertyps der Permeabilität" (HÖFLER 1940, 1943, 1956) bei Diatomeen nicht zulässig (BOGEN und FOLLMANN 1955, FOLLMANN 1956).

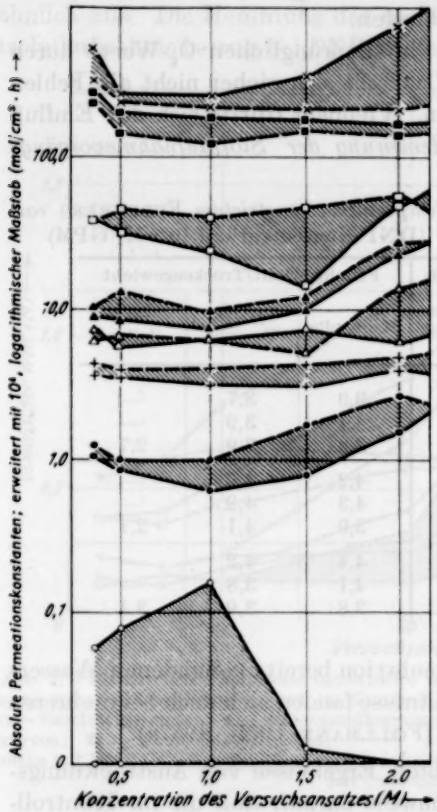


Abb. 4. Plasmolytisch ermittelte Permeationskonstanten von *Melosira arenaria* MOORE im Kontroll- und Hemmversuch mit Natriumazid. (○ = Saccharosekurven; ● = Erythritkurven; + = Malonamidkurven; △ = Glycerinkurven; ▲ = Harnstoffkurven; □ = Methylharnstoffkurven; ■ = Äthylenglykolkurven; × = Azetamidkurven; ——— = Kontrollversuch; — — — = Hemmversuch mit $NaN_3$ $10^{-2}$ M; schraffiert = Differenz der PK im Kontroll- und Hemmversuch; DMZ)

*II. Permeationskonstanten*

**1. Kontrollversuche.** Ebenso wie BOGEN und FOLLMANN (1955) haben wir auch hier formal für jede Meßstufe die PK berechnet. Als Beispiel wurden diejenigen von *Melosira arenaria* in ein logarithmisches Netz eingetragen (Abb. 4). Während bei der früher untersuchten *Melosira varians* die einzelnen PK als Funktion der Versuchsdauer aufgefaßt wurden, behandelten wir sie mit Hilfe der DZM in Abhängigkeit von der Ausgangskonzentration des jeweiligen Diosmotikums. Abbildung 4 erhellt, daß es sich dabei nicht um Konstanten handelt, wie sie nach der klassischen Permeabilitätslehre zu fordern sind (BOGEN 1956e). Bei den 8 geprüften Substanzen ließ sich kein durchgehendes Abhängigkeitsmerkmal der PK erkennen (Abb. 4). Dies ist unter dem Gesichtspunkt des nichtosmoti-

schen Stofftransports durch den Plasmaschlauch und der Bindung des Wassers und der Anelektrolyte in der Vacuole wohl verständlich: So verschiedene Stoffe wie beispielsweise Amide, Alkohole und Saccharide können die Trägersubstanzen im Protoplasma wie die Adsorbentien in der Vacuole in ganz verschiedener Weise beeinflussen. Solange jedoch über die Mechanismen des Stofftransports und der Stoffbindung durch die Zelle nur Vermutungen geäußert werden können, erübrigen sich hier weitere Erörterungen.

Der bei *Melosira varians* festgestellte starke Abfall der PK gegen Versuchsende (Bogen und Follmann 1955) tritt hier nicht so extrem

Tabelle 4. *Grenzkonzentrationen zur Auslösung des osmotischen Kollaps in Saccharose- und Polyäthylenglykollösungen*

| Art | Saccharose (M) | Polyäthylenglykol$_{300}$ (M) | Polyäthylenglykol$_{400}$ (M) |
|---|---|---|---|
| *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* . . | 1,2 | 0,9 | 0,8 |
| *Fragilaria hyalina* . . . . . | 0,7 | 0,7 | 0,6 |
| *Gomphonema constrictum* var. *capitata* | — | 1,8 | 1,5 |
| *Grammatophora marina* var. *adriatica* . | 1,3 | 1,0 | 1,1 |
| *Guinardia blavyana* . . . . . | 0,5 | 0,4 | 0,4 |
| *Melosira arenaria* . . . . . | 1,5 | 0,7 | 0,6 |
| *Melosira varians* . . . . . | 1,6 | 1,1 | 0,8 |
| *Rhizosolenia stolterfothii* . . . . . | 0,4 | 0,3 | 0,3 |

in Erscheinung, da wir mit der DZM auch einen weiteren, wiederansteigenden Ast der entsprechenden Kurven erfassen konnten. Damit wird deutlich, daß es sich dort nicht um eine osmotische Schädigung in Form von Permeabilitätsherabsetzung handelt (Schmidt 1936). Ebensowenig ist es allerdings wahrscheinlich, daß sich zu Versuchsende steigende Plasmolysepermeabilität bemerkbar macht (Weber 1931a), denn es handelt sich — wie vorn gezeigt wurde — nicht um Permeabilitätsänderungen, sondern um solche konzentrationsempfindlicher nichtosmotischer Aufnahmeprozesse.

Besonders auffällig ist der den Kurven der PK der übrigen Stoffe entgegenlaufende Anstieg und Abfall der PK-Kurve von Saccharose. Ähnliche Beobachtungen machten auch Marklund (1936) und Elo (1937). Während der Anstieg offenbar in einer mit der Versuchsdauer und Versuchskonzentration zunehmenden nichtosmotischen Wasseraufnahme begründet ist (Abb. 1), dürfte der Abfall eng mit der Erscheinung des *osmotischen Kollaps* (Küster 1929), die Höfler (1940, 1943) bei verschiedenen Süßwasserdiatomeen beobachtete, zusammenhängen. Bei einer Versuchskonzentration über 1,5 M Saccharose unterbleibt hier jegliche Deplasmolyse. 62% der Protoplasten kontrahierten zu krampfplasmolyseähnlichen Formen. Bei den anderen untersuchten

Arten lag der Grenzwert zur Auslösung des osmotischen Kollaps teilweise wesentlich niedriger (Tab. 4). Da die übrigen Anelektrolyte bei höheren Versuchskonzentrationen teilweise mit scheinbar erhöhter PK aufgenommen wurden, handelt es sich in diesem Falle nicht um einen Hypertonie-Effekt. Analoge Versuche mit Polyäthylenglykol$_{200}$ und Polyäthylenglykol$_{400}$ zeigten bereits bei einer Versuchskonzentration von 0,7 bzw. 0,6 M ein ähnliches Bild. Demnach ist der osmotische Kollaps eher mit dem Molvolumen dieser Stoffe in Verbindung zu bringen: Bei größeren Gaben werden sie möglicherweise derartig in den feinporigen inneren Schichten der Zellwände adsorbiert, daß der gesamte Stoffaustausch der Zelle zum Erliegen kommt. Dies könnte über krampfplasmolyse- und systropheartige Zustände zum Zelltod führen. PONZ und PARÉS (1955) beschreiben die vergleichbare Einlagerung von quaternären Ammoniumverbindungen in die Wände von Hefezellen als *Membraninhibition*.

**2. Hemmversuche.** Nach der Behandlung des Versuchsmaterials mit Stoffwechselgiften bestimmte PK sind ebenfalls für die kausalanalytische Betrachtung von geringem Wert, da auch bei ihnen nicht das reine Permeabilitätsverhalten hervortritt. Einmal können die nichtosmotischen Stoffaufnahmeprozesse nicht restlos unterbunden werden, außerdem wird bei der Berechnung der PK mit anderen Ausgangswerten gearbeitet, wodurch man keine streng vergleichbaren Werte erhält (Beispiele: BOGEN und FOLLMANN 1955). Wenn im Hemmversuch bestimmte PK über oder unter denen des Kontrollversuchs liegen, kann man also nicht von vornherein auf reale Erhöhung oder Herabsetzung der Permeabilität für den untersuchten Stoff schließen. Dabei wird trotzdem deutlich, daß $NaN_3$ das Stoffaufnahmeverhalten von *Melosira arenaria* erheblich zu ändern vermag (Abb. 4).

Wir versuchten auch aus den $O_r$-Werten der Osmometerversuche PK zu berechnen. Dabei ergaben weder die Kontroll- noch die Hemmversuche mit Rohrzucker und Harnstoff konstante Werte. Das war im Kontrollversuch von vornherein wegen der Überlagerung osmotischer und nichtosmotischer Prozesse nicht zu erwarten und verdeutlicht erneut, daß auch im Hemmversuch noch ein größerer Prozentsatz der Stoffaufnahme nichtosmotisch erfolgt.

### *III. Permeabilitätsreihen*

**1. Übereinstimmung empirischer und theoretischer Permeabilitätsreihen.** Auch aus dem Vergleich empirischer und theoretischer PR nach BOGEN (1950) lassen sich Hinweise auf die Existenz nichtosmotischer Stoffaufnahmeaktivität gewinnen (FOLLMANN 1956). Stimmen beide PR näherungsweise überein, so ist mit dem Vorherrschen von Permeationsmechanismen bei der Gesamtstoffaufnahme zu rechnen. Stärkere Ab-

weichungen deuten auf das Bestehen nichtosmotischer Stoffaufnahmevorgänge hin. Gleichzeitig wird das Verhältnis der vorliegenden zu einer Anzahl bislang bekannt gewordener PR von Zellen niederer und höherer Pflanzen erhellt. Von den hier untersuchten Arten zeigte nur *Leptocylindrus adriaticus* gesicherte Übereinstimmung der empirischen und theoretischen PR.

**2. Unterschiede zwischen den empirischen und theoretischen Permeabilitätsreihen.** Bei allen übrigen Arten treten derartige Diskrepanzen auf: Bei ihnen wird das Permeabilitätsverhalten entweder von der

Tabelle 5. *Vergleich der im Kontrollversuch erhaltenen Permeabilitätsreihen von Melosira arenaria* MOORE *nach Zusammenstellung der Minima und Maxima.* (Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die Außenkonzentration des Diosmoticums bei Versuchsbeginn. Sämtliche PK wurden mit $10^4$ erweitert. DZM.)

| Diosmoticum | Minima | | | | Maxima | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | C (M) | $PK_{empir.}$ $\left(\frac{mol}{cm^3 \cdot h}\right)$ | $PK_{theor.}$ $\left(\frac{mol}{cm^3 \cdot h}\right)$ | $\left(\frac{PK_{empir.}}{PK_{theor.}} \times 100\right)$ | C (M) | $PK_{empir.}$ $\left(\frac{mol}{cm^3 \cdot h}\right)$ | $PK_{theor.}$ $\left(\frac{mol}{cm^3 \cdot h}\right)$ | $\left(\frac{PK_{empir.}}{PK_{theor.}} \times 100\right)$ |
| Saccharose . | 2,0 | 0,00 | — | — | 1,0 | 1,82 | — | — |
| Erythrit . . | 1,5 | 0,69 | 0,75 | 92,5 | 2,5 | 1,84 | 1,55 | 119,1 |
| Malonamid . | 1,5 | 2,95 | (2,95) | (100,0) | 2,5 | 6,92 | (6,92) | (100,0) |
| Glycerin . . | 1,5 | 5,03 | 6,68 | 76,4 | 2,5 | 11,11 | 14,28 | 77,8 |
| Harnstoff . | 1,0 | 7,88 | 15,97 | 49,4 | 2,5 | 35,98 | 28,18 | 127,7 |
| Methylharnstoff . . | 1,5 | 15,44 | 30,09 | 51,3 | 2,5 | 60,94 | 59,49 | 102,4 |
| Äthylenglykol . . | 1,0 | 181,63 | 151,89 | 119,6 | 0,375 | 272,44 | 163,46 | 166,7 |
| Acetamid . | 1,0 | 260,33 | 199,93 | 130,2 | 2,0 | 769,64 | 212,78 | 357,0 |

metabolisch kontrollierten Stoffaufnahme verdeckt (z. B. bei *Melosira varians*, BOGEN und FOLLMANN 1955) oder ist überhaupt nicht vorhanden (z. B. bei *Gomphonema constrictum* var. *capitata*). Wir möchten hier stellvertretend nur die PR von *Melosira arenaria* herausgreifen.

Da die einzelnen PK von *Melosira arenaria* unter sehr verschiedenen Bedingungen gewonnen wurden, erwies es sich als notwendig, die Minimum- und Maximumwerte zusammenzustellen (Tab. 5). Während sehr wenige Werte quantitative Übereinstimmung zeigten (z. B. die Maximum-$PK_{Methylharnstoff}$), stimmten sie qualitativ verhältnismäßig gut überein (Ausnahme: Maximum-$PK_{Acetamid}$). Dabei fällt auf, daß die meisten Minimum-PK unter dem theoretischen Wert, alle Maximum-PK über diesem liegen. Das ist nach den vorn getroffenen Annahmen über die Auswirkung der nichtosmotischen Stoffaufnahmeprozesse verständlich: Die meisten Minimum-PK wurden bei geringer Konzentration des Diosmoticums und kurzer Versuchsdauer bestimmt. Hier kann sich die nichtosmotische Anelektrolytaufnahme noch nicht stark auswirken, während die nichtosmotische Wasseraufnahme den Bezugswert für die

Berechnung der theoretischen PK ($PK_{Malonamid}$) verhältnismäßig hoch erscheinen läßt. Die empirischen PK müssen also hinter den theoretischen zurückbleiben. Bei den mit hoher Versuchskonzentration und langen Versuchszeiten bestimmten Maximum-PK tritt jedoch die nichtosmotische Anelektrolytaufnahme stark in den Vordergrund, während die den Bezugswert $PK_{Malonamid}$ verfälschende nichtosmotische Wasseraufnahme infolge Hypertonie-Hemmung bereits wieder abfällt. Entsprechend erscheinen die empirischen PK gegenüber den theoretischen

Tabelle 6. *Vergleich der im Hemmversuch erhaltenen Permeabilitätsreihen von Melosira arenaria* MOORE *nach Zusammenstellung der Minima und Maxima.* (Die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die Außenkonzentration des Diosmoticums bei Versuchsbeginn. $NaN_3$-Zusatz: $10^{-2}$ M. Sämtliche PK wurden mit $10^4$ erweitert. DZM.)

| | Minima | | | | Maxima | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | C (M) | $PK_{empir.}$ $\left(\frac{mol}{cm^3 \cdot h}\right)$ | $PK_{theor.}$ $\left(\frac{mol}{cm^3 \cdot h}\right)$ | $\left(\frac{PK_{empir.}}{PK_{theor.}} \times 100\right)$ | C (M) | $PK_{empir.}$ $\left(\frac{mol}{cm^3 \cdot h}\right)$ | $PK_{theor.}$ $\left(\frac{mol}{cm^3 \cdot h}\right)$ | $\left(\frac{PK_{empir.}}{PK_{theor.}} \times 100\right)$ |
| Erythrit . . | 0,5 | 1,02 | 0,87 | 117,9 | 2,5 | 3,51 | 1,63 | 216,0 |
| Malonamid . | 1,5 | 3,90 | (3,90) | (100,0) | 2,5 | 7,23 | (7,23) | (100,0) |
| Glycerin . . | 1,0 | 6,64 | 8,99 | 73,9 | 2,5 | 20,61 | 14,89 | 138,4 |
| Harnstoff . | 1,0 | 11,30 | 18,55 | 60,9 | 2,5 | 37,55 | 30,16 | 124,5 |
| Methylharnstoff . . | 0,375 | 41,23 | 39,59 | 104,1 | 2,5 | 66,48 | 61,70 | 107,7 |
| Äthylenglykol . . | 1,0 | 127,01 | 169,75 | 74,8 | 0,375 | 254,53 | 169,74 | 149,9 |
| Acetamid . | 2,0 | 205,50 | 232,95 | 87,8 | 0,375 | 362,16 | 210,12 | 172,4 |

erhöht. Dies wird bei den schnelleindringenden Verbindungen besonders deutlich.

Die empirischen und theoretischen PK von *Gomphonema constrictum* var. *capitata* und *Achnanthes lanceolata* var. *rostrata* ließen überhaupt keine Übereinstimmung erkennen. Die Abweichungen betrugen durchschnittlich $\pm$ 387%. Da hier die Anelektrolyt- und Wasseraufnahme vorwiegend nichtosmotisch erfolgt, war jedoch auch keine Übereinstimmung zu erwarten. Der Vergleich weiterer PR untereinander ist wenig aussichtsreich, da sich die verschiedenen Stoffaufnahmearten in nicht einwandfrei kontrollierbarer Weise überlagern. Gleiches gilt für die PR, die nach Vergiftung des Zellstoffwechsels bestimmt wurden, da die verwendeten Stoffwechselgifte die Aufnahmeraten der einzelnen Diosmotica unterschiedlich beeinflussen (Tab. 6).

### *IV. Austrocknungsversuche*

Aus den vorn beschriebenen Versuchen ging hervor, daß die nichtosmotische Wasseraufnahme und -bindung am Stoffaustausch mehrerer Diatomeenarten hervorragenden Anteil hat. Unsere Plasmolyse- und

Osmometerversuche gestatteten aber auf Grund der vielfältigen Überlagerungen osmotischer, meta- und nichtosmotischer Stoffaufnahmeprozesse keine sichere Bestimmung der Anteile passiv und aktiv gebundenen Zellwassers. Austrocknungsversuche gaben jedoch Hinweise darauf, daß das Gesamtwasser von *Melosira arenaria* möglicherweise in *4 verschiedenen Phasen* gebunden vorliegt (Abb. 5). Analog den Ausfrierversuchen an lebenden Zellen (LUYET und GEHENIO 1939, PICHOTKA und W. HÖFLER 1954) kann man aus dem Verlauf von Austrocknungskurven Schlüsse auf die Wasserbindung ziehen. Unter der bislang unbewiesenen Voraussetzung, daß Vacuole und Protoplasma keine Systeme gleichen Dampfdrucks darstellen und daß sich in austrock-

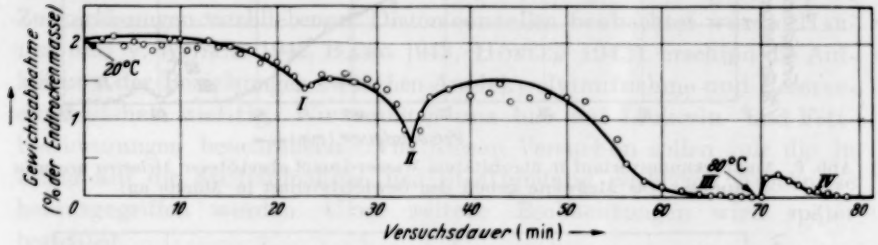


Abb. 5. Austrocknungsverlauf von *Melosira arenaria* MOORE. (Die Meßwerte geben den Gewichtsverlust je Minute an)

nenden Zellen kein Gleichgewicht zwischen den verschiedenen Wasserphasen einstellt, können die in Abb. 5 zusammengefaßten Ergebnisse folgendermaßen interpretiert werden:

a) Zunächst verdunsten *Haftwasser* und *Imbibitionswasser der Zellwand* mit annähernd gleicher Leichtigkeit bis zum ersten Minimum. Da *Melosira arenaria* unverhältnismäßig starke Schalen mit größeren Hohlräumen besitzt, macht das capillar gebundene Wasser wahrscheinlich den Hauptteil des primären Verdunstungswassers aus.

b) Beim Verdampfen des echten *Lösungswassers*, dessen Hauptmenge aus der Vacuole stammt, muß die Barriere des plasmatischen Wandbelags überwunden werden. Die Verdunstung erscheint zunächst verlangsamt. Der Protoplast dürfte aber in der Zwischenzeit durch die Abtrocknung bereits derart geschädigt werden, daß er der Verdampfung des Lösungswassers bald keine Schranke mehr entgegenzusetzen vermag. Dabei können Koagulationserscheinungen im Protoplasma mikroskopisch nachgewiesen werden. Beim zweiten Minimum dürfte der wesentliche Teil des Lösungswassers verdampft sein.

c) Bei dem noch in der Zelle verbleibenden *Hydratationswasser* muß vor der Abgabe die mehr oder weniger feste Bindung an verschiedene Zellkolloide gelöst werden. Dieser endotherme Vorgang benötigt wahrscheinlich ein größeres Wärmequantum als der vorige: Die Verdampfung

stagniert für kurze Frist. Beim dritten Minimum dürften auch die Zellsaftkolloide dehydratisiert sein, die nach unserer Auffassung die nichtosmotische Wasserbindung der Zelle bewirken. Möglicherweise wird hier in der Hauptsache die $NaN_3$-unempfindliche Komponente des aktiv gebundenen Zellwassers erfaßt. Die für die $NaN_3$-empfindliche Komponente notwendige dauernde Energiezufuhr seitens des Zellmetabolismus dürfte schon während der zweiten Verdunstungsstufe mehr und mehr ausfallen. Einige Zellen zeigen dabei Schrumpfplasmolyse.

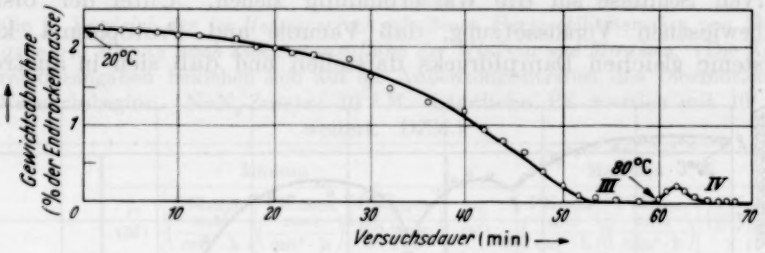


Abb. 6. Austrocknungsverlauf in überhitztem Wasserdampf abgetöteter *Melosira arenaria* MOORE. (Die Meßwerte geben den Gewichtsverlust je Minute an)

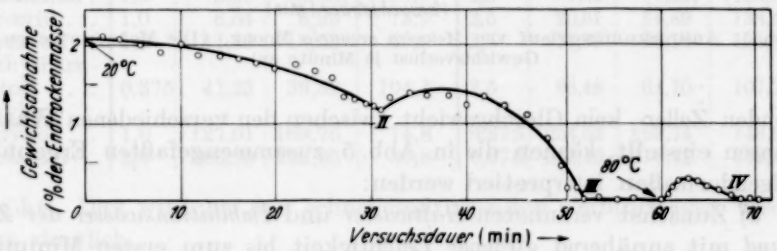


Abb. 7. Austrocknungsverlauf natriumazidbehandelter und in Rohrzuckerlösung grenzplasmolysierter *Melosira arenaria* MOORE. (Die Meßwerte geben den Gewichtsverlust je Minute an)

d) Durch Temperaturerhöhung auf 80° C kann bis zum letzten Minimum noch ein weiterer Wasserbetrag aus der Zellsubstanz entfernt werden. Dieses befindet sich im Gegensatz zum Hydratationswasser in festerer chemischer Bindung. Wir fassen es mit LEVITT und TODD (1952) als *gebundenes Wasser*[1] auf. Dabei kann sicher zwischen dem in verhältnismäßig lockerer Bindung befindlichen nichtosmotisch festgelegten Vacuolenwasser und dem fester gebundenen Konstitutionswasser anderer Zellbestandteile nicht scharf unterschieden werden. Demnach liegt also mehr als die Hälfte des Zellwassers von *Melosira arenaria* in aktiver Bindung vor.

In überhitztem Wasserdampf *abgetötete Zellen* zeigten kontinuierlichen Kurvenverlauf (Abb. 6). Hier dürfte die nichtosmotische Wasserbindung

[1] *Bound water* der angelsächsischen Autoren.

bereits großenteils gelöst sein. Die geringen Unterschiede in der Menge des gebundenen Wassers lassen sich gegenüber dem vorigen Versuch nicht sichern.

Zwischen Kontrollzellen und $NaN_3$-behandelten konnten keine Unterschiede im Gesamtwassergehalt festgestellt werden. Doch entfällt im *$NaN_3$-Versuch* das erste Minimum (Abb. 7). Das zweite Minimum tritt nicht so stark in Erscheinung wie im Kontrollversuch. Daraus kann mit Vorbehalt geschlossen werden, daß hier die nichtosmotische Wasserbindung teilweise gelöst ist.

*V. Beziehungen zwischen Anelektrolytaufnahme und Reservestoffhaushalt*

Nachdem verschiedentlich starke Verfettung von längere Zeit in Zuckerlösungen verbliebenen Diatomeenzellen beobachtet wurde (Harder und v. Witsch 1942, Barg 1943, Höfler 1943), erschien die Aufklärung der Beziehungen zwischen Anelektrolytaufnahme und Reservestoffhaushalt wichtig. Wir mußten uns hier auf Leukosin- und Fettbestimmungen beschränken. Von diesen Versuchen sollen nur die in bezug auf die Stoffaufnahme und Stoffbindung wichtigen Ergebnisse herausgegriffen werden. Über weitere Beobachtungen wird später berichtet.

Vorversuche ergaben Abweichungen des Leukosin- und Fettspiegels bei frischem und vorkultiviertem Material (Schreiber 1928). Da aber zu den Untersuchungen größere Algenmengen benötigt wurden, als in unseren Anreicherungskulturen herangezogen werden konnten, mußte im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Versuchen Frischmaterial verwendet werden. Geringe Abweichungen zu dem Verhalten vorkultivierter Algen müssen also in Betracht gezogen werden. Das plasmolytische Verhalten der frisch eingesammelten Diatomeen entsprach jedoch im Rahmen der Fehlergrenzen dem der vorkultivierten. (Das gesamte Versuchsgut wurde während des ersten Vegetationsmaximums Mitte April eingesammelt. Es handelt sich also nicht um gealterte Zellen mit abnormem Fettspiegel.)

Die in Abb. 8 zusammengefaßten Ergebnisse der Leukosinbestimmungen lassen sich in Verbindung mit den vorn dargestellten plasmolytischen und osmometrischen Erfahrungen folgendermaßen umreißen:

a) Der Leukosinspiegel von *Melosira varians* nimmt bei längerem Verweilen in Saccharoselösungen um maximal 2,0% d. T. zu. Das Maximum tritt bei einer Saccharosekonzentration von 0,5 M auf. Für die Vacuolenfunktion kann die *Zunahme quellfähiger Substanz* vermehrte Fähigkeit zu nichtosmotischer Wasserbindung bedeuten. Daraus würde die häufig beschriebene hohe Deplasmolysegeschwindigkeit resultieren. Ähnliche Beziehungen fanden Carlier und Buffel (1955) am Kartoffelparenchym. Hier wird bei Auxingaben die Pentosan- und Pektin-

synthese in gleichem Maße gesteigert, wie die nichtosmotische Wasseraufnahmefähigkeit zunimmt. Vergleichbar sind auch die Beobachtungen THIMANNS und LOOS' (1957) über die Koppelung von Proteinsynthese und Wasseraufnahme in Artischocken- und Kartoffelknollen. Da Kohlenhydratgaben bei Diatomeen starke Atmungsförderung nach sich ziehen (LEWIN 1955), ist anzunehmen, daß zur Leukosinsynthese Atmungsenergie verwendet wird. Diese Tatsache klärt gleichzeitig einen Teil der Hemmwirkung von Atmungsgiften auf die aktive Stoffaufnahme. Die Abnahme des Leukosinspiegels in höheren Saccharosekonzentrationen kann auf plasmolytische Schädigung des Protoplasten, insbesondere auf Inhibition seiner Fermentsysteme durch die veränderte Hydratur zurückgeführt werden.

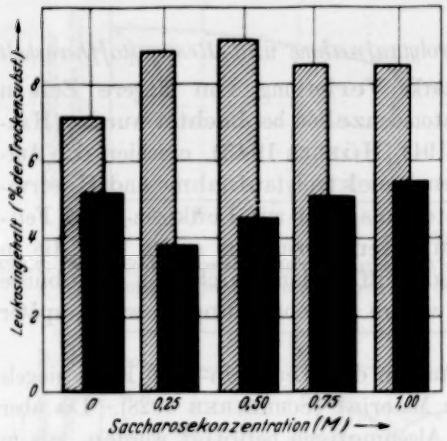


Abb. 8. Der Leukosingehalt von *Melosira varians* AGARDH nach 48stündigem Aufenthalt in Saccharoselösungen im Kontroll- und Hemmversuch (schraffiert = Kontrollversuch; schwarz = Hemmversuch)

b) $NaN_3$-Zugabe verhindert nicht nur die Leukosinbildung, sondern bewirkt eine Reduktion des Leukosinspiegels um 2,0% d. T. im Kontrollversuch und 5,1% d. T. bei Saccharosegaben von 0,25 M. Für unsere plasmolytischen Beobachtungen bedeutet dies die *Verminderung wasserbindungsfähiger Vacuolenstoffe*. Entsprechend erscheinen die $O_g$-Werte erniedrigt, und der Protoplast zeigt Kontraktionszunahme. Die $NaN_3$-Wirkung auf die Deplasmolyse der Diatomeenzelle besteht also zu einem Teil darin, daß das auf Grund seiner Hydratationseigenschaften turgorregelnde Leukosin zugunsten des Fettgehaltes abgebaut wird (Abb. 10).

Ähnliche Ergebnisse zeigten Versuche mit Dextrose. Demnach können Diatomeen verschiedene Zucker ihres Mediums mit in den Stoffwechsel einbeziehen. Zur gleichen Feststellung gelangte RICHTER (1903) nach Kulturversuchen.

Der Fettspiegel von *Melosira varians* konnte ebenfalls durch Eintragen in Saccharoselösungen verändert werden (Abb. 9). Der Maximalwert der Erhöhung lag hier bei 3,1% d. T. (0,50 M Saccharose). Auffällig ist die starke Zunahme des Fettgehaltes im Hemmversuch. Sie beträgt maximal 5,7% d. T. (0,25 M Saccharose). Bei pennaten Arten ist die Fettbildung nach Behandlung mit Fermentgiften wie Monojodessigsäure und Natriumfluorid auch mikroskopisch nachweisbar (COULON

1956). Einen verwandten Effekt beobachtete LÜDERS (1862) bei längerem Sauerstoffabschluß von Diatomeenzellen. Da in den von ihnen verwendeten Medien keine nennenswerten Mengen von Kohlenhydraten anwesend waren, kann angenommen werden, daß nicht die gesamte, während der Versuchsdauer neu aufgebaute Fettsubstanz aus der nach den osmometrischen Bestimmungen offensichtlich geringen Menge nichtosmotisch aufgenommenen Rohrzuckers aufgebaut wird (Abb. 1). Vielmehr setzt bei Atmungshemmung ein *Leukosin-Fettumbau* ein (Abb. 10). In Übereinstimmung damit deuteten vorläufige Eiweißbestimmungen an, daß die Herkunft der Fettkonstituenten nicht im Eiweißabbau zu suchen ist. Da $NaN_3$ mehrere Enzyme des Fettsäurecyclus und der Glycerinsynthese hemmt, muß die Frage des Chemismus dieser Reaktion vorläufig ungeklärt bleiben (LYNEN 1955, STUMPF 1957).

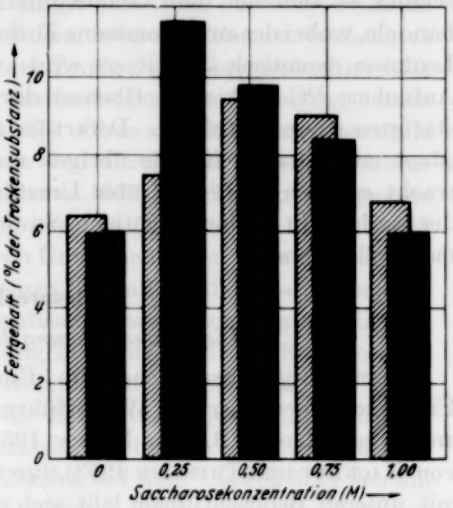


Abb. 9. Der Fettspiegel von *Melosira varians* AGARDH nach 48stündigem Aufenthalt in Saccharoselösungen im Kontroll- und Hemmversuch (schraffiert = Kontrollversuch; schwarz = Hemmversuch)

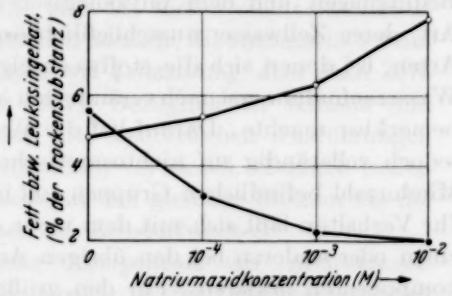


Abb. 10. Beziehungen zwischen Fett- und Leukosinspiegel von *Melosira varians* AGARDH in Abhängigkeit von der Natriumazidkonzentration der Versuchslösung (○ = Fettgehalt; ● = Leukosingehalt; Saccharosekonzentration: 0,34 M)

Wie ein einfacher Gewichtsvergleich zeigt, reicht aber auch die aus dem Leukosinabbau stammende Substanz zusammen mit der aktiv aufgenommenen Saccharose nicht zu der beobachteten Fettsynthese aus[1]. Daraus kann geschlossen werden, daß neben der osmometrisch ermittelten nichtosmotischen Zuckeraufnahme noch eine weitere

[1] Nach Analysen von KATHEN (1949) handelt es sich bei den Diatomeenfetten im wesentlichen um Stearinsäure-Ölsäure-Linolsäure-Glyceride. Sie machen etwa 80% des Ätherextraktes aus. Der Prozentsatz des Reinfettes entspricht also etwa dem des Reinleukosins. Dieses ist ein noch nicht näher definiertes Polyglucosan mit einem MG zwischen 3000 und 20000 (v. STOSCH 1951).

Zuckeraufnahmekomponente besteht. Die so aufgenommene Zuckermenge ist weder im Plasmolyse- noch im Preßsaftversuch faßbar. Deshalb scheint es sich um eine Osmoregulation in Form von Katatonose zu handeln, wobei der aufgenommene Zucker umgebaut und durch Einbau in Leukosin osmotisch inaktiviert wird. Orientierende Versuche über die Aufnahme $^{14}C$-markierter Glucose durch marine Grunddiatomeen bestätigten diese Annahme. Derartige *metaosmotische Stoffaufnahmevorgänge* müssen auch für die übrigen untersuchten Anelektrolyte in Betracht gezogen werden. Unter Umständen können sie zur Aufhellung der noch recht undurchsichtigen Stoffaufnahmeverhältnisse der Diatomeenzelle dienen.

## E. Besprechung

### *I. Die Wasserführung der Diatomeenzelle*

Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit zahlreichen neueren Untersuchungen über die Wasserführung der Pflanzenzelle, die sowohl an Einzelzellen (z. B. von BOGEN 1953) wie an Gewebeblöcken (z. B. von HACKETT und THIMANN 1953) durchgeführt wurden. In Verbindung mit unseren Beobachtungen läßt sich danach die Wasseraufnahme und -bindung der Diatomeenzelle ganz allgemein in eine *osmotische und* eine *nichtosmotische Komponente* gliedern. Das Verhältnis beider ist bei den Diatomeen nicht konstant. Es wechselt mit der Art, den ökologischen Bedingungen und dem physiologischen Zustand. So fanden wir eine Art, deren Zellwasser ausschließlich osmotisch gebunden war, und drei Arten, bei denen sich die stoffwechselgift-empfindliche nichtosmotische Wasseraufnahme erst nach veränderten Außenbedingungen wie Plasmolyse bemerkbar machte. Darauf lief die Wasser- und Anelektrolytaufnahme jedoch vollständig auf nichtosmotischem Wege ab. Von diesen in der Minderzahl befindlichen Gruppen soll im folgenden nicht die Rede sein. Ihr Verhalten läßt sich mit dem mehr oder minder starken Fortfall der einen oder anderen bei den übrigen Arten vorhandenen Stoffbindungskomponenten erklären. Für den größten Teil der untersuchten Arten können die Verhältnisse bei *Melosira arenaria* und *Melosira varians* als Beispiel gelten.

Der *osmotische Anteil* der Wasserführung der Diatomeenzelle basiert auf wohlbekannten physikalischen Gesetzmäßigkeiten. Die Aufnahme des Wassers läßt sich als durch den Plasmaschlauch mehr oder weniger behinderte Diffusion beschreiben (BOGEN 1956e, KRAMER 1956). Dieser Zellwasseranteil befindet sich in der Vacuole der ausdifferenzierten Zelle als Lösungswasser. Bei den hier untersuchten Arten macht er durchschnittlich 50% des Gesamtwassers aus.

Der *nichtosmotische Anteil* der Wasserführung der Diatomeenzelle ist komplexer Natur. Wir fanden ebenso wie PRELL (1955a) einen *stoff-*

*wechselgift-empfindlichen und* einen *stoffwechselgift-unempfindlichen Zweig.* Der erste ist mit den Stoffwechselleistungen der Zelle wie dem Phosphorylierungscyclus eng verknüpft. Er ist bereits im Plasmolyseversuch nachweisbar und wurde auch bei Zellen höherer Pflanzen beobachtet (PRELL 1955a, BOGEN 1956a). Dieser Zweig der Wasseraufnahme läßt sich zu einem Trägersystem der Stoffaufnahme in Beziehung setzen (letzte Zusammenfassung: HARRIS 1957). Ob es sich dabei um contractile Plasmaproteine (GOLDACRE 1952), in den Dienst der Wasseraufnahme tretende Fermente (DANIELLI 1954, KEPES 1957) oder Transportaggregate wie Mikrosomen und Mitochondrien handelt (ROBERTSON 1951, PRICE und DAVIES 1954), kann nach unseren Untersuchungen nicht entschieden werden. Die Tatsache, daß KCN keinen Einfluß auf die Wasser- und Anelektrolytaufnahme hat, vermag in diesem Zusammenhang lediglich zu zeigen, daß es sich bei der Wirkung der verschiedenen Stoffwechselinhibitoren nicht um unspezifische Hemmungsreaktionen handelt. Diese Beobachtung zeigt außerdem, daß die Zellatmung nicht unmittelbar an der Wasseraufnahme der Diatomeenzelle wie bei der Anionenaufnahme beteiligt ist (LUNDEGÅRDH 1954), sondern auf dem Umweg über den allgemeinen Energiehaushalt der Zelle wirkt.

Gegen unsere Auffassung wendet HÖFLER (1956) ohne Anführung von Belegen ein, daß die zur aktiven Wasseraufnahme der Diatomeen notwendige Energie nicht durch die Zellatmung aufgebracht werden könne. Dazu möchten wir anführen, daß es sich bei vielen nichtosmotischen Transportvorgängen um Nebenfunktionen handelt, die automatisch dann mitlaufen, wenn andere Zellfunktionen wie Zellatmung, aber auch Zellwachstum usw. einsetzen (HARRIS 1957). Bezüglich der Kinetik und Energetik dieser Vorgänge sei auf die theoretischen Ausführungen ROSENBERGS und WILBRANDTS (1952, 1955) verwiesen. Danach laufen nichtosmotische Stofftransportprozesse in den gleichen Bahnen wie die geläufigen enzymatischen Reaktionen des Zellstoffwechsels.

Die *stoffwechselgift-unempfindliche Komponente* der nichtosmotischen Wasseraufnahme der Diatomeenzelle ist im Osmometerversuch nachweisbar und steht in engem Zusammenhang mit der Hydratation von Vacuolenkolloiden (PRELL 1955a). Hier ist vornehmlich an das Reserveleukosin zu denken, das nach Beobachtungen von KORSHIKOV (1930) an der Wasserführung der Diatomeenzelle unmittelbar beteiligt ist: Nach Eintragen in hypotonische Medien schwollen Leukosintropfen in den Vacuolen vorplasmolysierter Zellen pennater Arten stark an und änderten ihre Brechungseigenschaften. Bei unseren Versuchen ließ sich dieser mikroskopische Nachweis nicht erbringen. Das mag unter anderem damit zusammenhängen, daß der Leukosinspiegel mit den ökologischen Bedingungen und dem physiologischen Zustand der Diatomeenzelle schwankt (GEITLER 1949, v. STOSCH 1951). Vielleicht vermag dies

auch einen Teil der unter verschiedenen Diatomeenarten auftretenden Abweichungen im Stoffaufnahmeverhalten zu erklären.

*Vacuolenkolloide* wurden schon mehrfach zur Deutung nichtosmotischer Phänomene s. l. an der Pflanzenzelle herangezogen (BÜNNING 1949, DRAWERT 1949, HÄRTEL 1950, KENDA und WEBER 1952, JEREMIAS 1956, FOLLMANN 1957a). In Analogie zum strukturell und funktionell verwandten Glykogen der Tierzelle möchten wir annehmen, daß das Leukosin in der lebenden Zelle nicht in der von uns isolierten denaturierten Form vorliegt, sondern wie dieses in einem Komplex von Lipoiden und Proteinen eingebettet ist (MEYER und JEANLOZ 1943), was seine Funktion im Stoffhaushalt der Diatomeenzelle weitgehend klären würde. Gemäß der Definition BOGENS (1951) handelt es sich bei der Wasseraufnahme durch Leukosin-Kolloide um einen metaosmotischen Vorgang: Auf dem Diffusionsweg in die Zelle gelangtes Wasser kann sekundär als Hydratwasser gebunden werden, wonach erneut osmotische Wasseraufnahme erfolgt.

In der *Melosira*-Zelle liegt aber auch von vornherein ein beträchtlicher Betrag metabolisch gebundenen Wassers vor. Unsere plasmolytisch-osmometrischen Untersuchungen zeigten, daß man auch bei diesem einen von dauernder Energiezufuhr abhängigen $NaN_3$-empfindlichen und einen fester gebundenen $NaN_3$-unempfindlichen Teil unterscheiden kann. In der Diatomeenvacuole treten also unterschiedliche *Wasserbindungsarten* auf. Formal kann danach zwischen physiologisch labilen und stabilen Vacuolenkolloiden unterschieden werden. Über die verschiedenen Mechanismen der Wasserbindung durch sie können nach unseren Versuchen keine Aussagen gemacht werden. Die Anteile der einzelnen nichtosmotischen Komponenten untereinander am Wasserhaushalt der Diatomeenzelle sind nicht konstant. Es ist damit zu rechnen, daß fließende Übergänge bestehen.

### *II. Anelektrolytaufnahme und Anelektrolytbindung durch die Diatomeenzelle*

Ein Teil der Anelektrolytaufnahme der untersuchten Diatomeen zeigt mehrere der Kriterien ROSENBERGS (1954) für das Bestehen nichtosmotischer Stoffaufnahmevorgänge:

1. Das Stoffaufnahmeverhalten ist während des Versuchsverlaufs bei unveränderten Außenbedingungen nicht konstant.

2. Die Stoffaufnahmerate stellt keine lineare Funktion der Konzentrationsdifferenz zwischen Zellsaft und Versuchslösung dar. Sie läßt sich also nicht als Diffusionsvorgang beschreiben.

3. Enzyminhibitoren greifen hemmend in die Stoffaufnahmevorgänge ein.

4. Das Stoffaufnahmeverhalten zeigt eine gewisse Substratspezifität. Demnach kann auch die Anelektrolytaufnahme in einen *osmotischen und* einen *nichtosmotischen Zweig* unterteilt werden. Obwohl sich die Übereinstimmung der Anelektrolytaufnahme mit der Wasseraufnahme auch auf die Unterscheidung einer stoffwechselgift-empfindlichen und einer stoffwechselgift-unempfindlichen Komponente innerhalb des nichtosmotischen Zweiges erstreckt, gehorchen sie doch getrennten Mechanismen, wie unsere vergleichend plasmolytisch-osmometrischen Untersuchungen zeigten. Konkurrenzerscheinungen, wie sie HANSEN und BONNER (1954) bei der Wasser- und Elektrolytaufnahme beobachteten, treten deshalb auch nicht auf.

Die *Zuckeraufnahme* der Diatomeenzelle steht in enger Verbindung zum Reservestoffhaushalt. Sie erfolgt zu einem geringen Teil nichtosmotisch, zum größeren Teil metaosmotisch. Wieweit auch die übrigen Diosmotica metaosmotisch aufgenommen werden, muß die Einzelanalyse zeigen. Mit Ausnahme des Glycerins ist es allerdings unwahrscheinlich, daß sie mit in den Stoffwechsel einbezogen werden. Hier ist an Additionsverbindungen mit Vacuoleninhaltsstoffen zu denken, wie sie von SCHLENK (1949) für den Harnstoff beschrieben wurden.

Auch diese Ergebnisse stimmen mit mehreren neueren Untersuchungen der Anelektrolytaufnahme der Pflanzenzelle überein: Der wesentliche Teil der Zuckeraufnahme von Hefezellen erfolgt nichtosmotisch (RIEDER 1951), Tomatenwurzeln nehmen Disaccharide unter Hydrolyse an der Protoplastengrenzfläche ausschließlich nichtosmotisch auf (STREET und LOVE 1950) und die Harnstoffaufnahme von *Helodea-* und *Taraxacum*-Epidermen erfolgt zum wesentlichen Teil nichtosmotisch, wobei — wie bei unseren Versuchen — zwischen unmittelbar stoffwechselgesteuerten und stoffwechselunabhängigen Stoffaufnahmevorgängen unterschieden werden kann (PRELL 1955b). Über die Anelektrolytaufnahme der Diatomeenzelle entscheiden also nicht nur der mehr oder weniger basische Charakter der Plasmahautlipoide (HÖFLER 1942), die Porenweite samt gewissen elektroosmotischen Eigenschaften (BRAUNER und HASMAN 1947, STUDENER 1948) und das Gefälle der Wasserstoffionenkonzentration zwischen Außenmedium und Zellsaft (DRAWERT 1948), sondern auch mehrere *physiologische Komponenten* (BOGEN 1953, 1956a).

Auf die *Konsequenzen* vorliegender Beobachtungen für plasmolytische Untersuchungen wurde schon mehrfach hingewiesen (BOGEN 1953, 1956a, 1956b, 1956c, BOGEN und PRELL 1953, PRELL 1953, BOGEN und FOLLMANN 1955). Darüber hinaus vermögen sie einige, früher unbefriedigend geklärte Ergebnisse aufzuhellen. Wir greifen einige Beispiele heraus:

a) Differenzen zwischen plasmolytisch und osmometrisch ermittelten osmotischen Werten lassen sich zwanglos mit dem Vorhandensein meta-

oder nichtosmotischer Wasseraufnahme- und -bindungsmechanismen erklären (HALKET 1913, WILDERVANCK 1932). Gleiches gilt für die häufig beobachteten

b) Differenzen zwischen plasmolytischen und kryoskopischen Bestimmungen osmotischer Werte, bei denen die kryoskopischen Werte immer unter den plasmolytischen lagen (CURRIER 1944, REIMERS 1957, KRAMER 1956) und für

c) Differenzen im Stoffaufnahmeverhalten ungleich alter Zellen (WEBER 1931 b), solcher von Freiland- und Gewächshausmaterial (LENK 1956) und zu verschiedenen Jahreszeiten (HOFMEISTER 1938, LENK 1953), außerdem für

d) Volumschwankungen plasmolysierter Protoplasten bei Dauerplasmolyse, die bislang auf Exosmoseerscheinungen zurückgeführt wurden (KREBS 1952, LENK 1956). Die nachgewiesenen meta- und nichtosmotischen Stoffaufnahmezweige der Diatomeenzelle sind eng mit der *Vacuolenfunktion* koordiniert. Daher stellen unsere Ergebnisse zusammen mit zahlreichen anderen Beobachtungen über die Beteiligung des Zellsaftraumes am allgemeinen Zellstoffwechsel eine Stütze der Auffassung DANGEARDS (1923, 1956) dar, wonach die Vacuole der Pflanzenzelle zumindest in physiologischer Hinsicht als aktiver Teilnehmer am Zelleben anzusehen ist.

## Zusammenfassung

I. Die Aufnahme und Bindung von Wasser, Saccharose, Erythrit, Malonamid, Glycerin, Harnstoff, Methylharnstoff, Äthylenglykol, Acetamid und Propionamid durch die zentrischen Diatomeen *Guinardia blavyana* PERAGALLO, *Leptocylindrus adriaticus* SCHROEDER, *Melosira arenaria* MOORE, *Melosira varians* AGARDH und *Rhizosolenia stolterfothii* PERAGALLO und die pennaten Arten *Achnanthes lanceolata* BREBISSON var. *rostrata* HUSTEDT, *Fragilaria hyalina* (KUETZ.) GRUNOW, *Gomphonema constrictum* EHRENBERG var. *capitata* (EHR.) CLEVE und *Grammatophora marina* (LYNGB.) KUETZING var. *adriatica* GRUNOW wurde experimentell untersucht.

II. Anhand vergleichend plasmolytisch-osmometrischer Versuche und durch Anwendung von Stoffwechselinhibitoren ließen sich osmotische, meta- und nichtosmotische Stoffaufnahme- und -bindungsvorgänge trennen.

III. *Leptocylindrus adriaticus* SCHROEDER zeigte vorwiegend osmotische, *Achnanthes lanceolata* BREBISSON var. *rostrata* HUSTEDT und *Gomphonema constrictum* EHRENBERG var. *capitata* (EHR.) CLEVE wesentlich nichtosmotische und *Fragilaria hyalina* (KUETZ.) GRUNOW, *Grammatophora marina* (LYNGB.) KUETZING var. *adriatica* GRUNOW, *Guinardia blavyana* PERAGALLO, *Melosira arenaria* MOORE und *Melosira varians*

AGARDH und *Rhizosolenia stolterfothii* PERAGALLO beide Stoffaustausch-Eigenschaften.

IV. Die aufgefundenen nichtosmotischen Stoffaufnahme- und -bindungsvorgänge sind komplexer Natur und zerfallen in einen unmittelbar stoffwechselgesteuerten und einen stoffwechselunabhängigen Zweig. Wasser und Anelektrolyte werden von verschiedenen Aufnahmesystemen transportiert.

V. Austrocknungsversuche an *Melosira arenaria* MOORE brachten Hinweise darauf, daß ihr Zellwasser als Imbibitionswasser der Zellwand und des Protoplasten, Lösungswasser der Vacuole, Hydratationswasser von Vacuolen- und Cytoplasmakolloiden und fester gebundenes Konstitutionswasser von Zellbestandteilen gebunden vorliegt.

VI. Leukosin- und Fettbestimmungen mit *Melosira varians* AGARDH zeigten den unmittelbaren Zusammenhang zwischen Plasmolyseverhalten, Stoffaufnahme und Reservestoffhaushalt: Zuckergaben führen zu einer Erhöhung des Leukosinspiegels und steigern damit die Fähigkeit zu nichtosmotischer Stoffbindung. Stoffwechselgift-Behandlung bewirkt dagegen ein Ansteigen des Fettspiegels auf Kosten des Leukosingehalts, woraus Minderung der nichtosmotischen Stoffbindungsaktivität resultiert.

VII. Die nichtosmotische Stoffaufnahme wird zu Trägervorgängen im Diatomeenplasma, die meta- bzw. nichtosmotische Stoffbindung zu labilen Leukosinkomplexen in der Diatomeenvacuole in Beziehung gesetzt.

## Literatur

BARG, T.: Über den Fettgehalt der Diatomeen. Ber. dtsch. bot. Ges. (Berl.) **61**, 13 (1943). — BOGEN, H. J.: Kritische Untersuchungen über Permeabilitätsreihen. Planta (Berl.) **38**, 65 (1950). — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Fortschr. Bot. (Berl.) **13**, 192 (1951). — Beiträge zur Physiologie der nichtosmotischen Wasseraufnahme. Planta (Berl.) **42**, 140 (1953). — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Forschr. Bot. (Berl.) **15**, 212 (1954). — Nichtosmotische Aufnahme von Wasser und gelösten Anelektrolyten. Ber. dtsch. bot. Ges. (Berl.) **69**, 209 (1956a). — Zellphysiologie und Protoplasmatik. Fortschr. Bot. (Berl.) **18**, 194 (1956b). — Permeabilität, nichtdiosmotische Stoffaufnahme und -abgabe. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 2, S. 116. Berlin 1956c. — Objekttypen der Permeabilität. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 2, S. 246. Berlin 1956d. — Die Theorie der Permeabilität. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 2, S. 439. Berlin 1956e. BOGEN, H. J., u. G. FOLLMANN: Osmotische und nichtosmotische Stoffaufnahme bei Diatomeen. Planta (Berl.) **45**, 125 (1955). — BOGEN, H. J., u. H. PRELL: Messung nichtosmotischer Wasseraufnahme an plasmolysierten Protoplasten. Planta (Berl.) **41**, 459 (1953). — BRAUNER, L., u. M. HASMAN: Weitere Untersuchungen über die anomale Komponente des osmotischen Potentials lebender Pflanzenzellen. Rev. Fac. Sci. Univ. (Istanbul) **12**b, 3 (1947). — COLLANDER, R.: Permeability of plant cells. Annual Rev. Plant. Physiol. (Palo Alto) 8, 335 (1957). — COLLANDER, R., u. H. BÄRLUND: Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla* II. Die Permeabilität für Nichtelektrolyte. Acta bot. fenn. (Helsinski) **11**, 1

(1933). — COULON, F.: Über die Fettbildung und den Plastidenformwechsel bei *Nitzschia palea*. Arch. Protistenkde (Jena) **101**, 443 (1956). — CURRIER, H. B.: Water relations of root cells of *Beta vulgaris*. Amer. J. Bot. (Baltimore) **31**, 378 (1944). — DANGEARD, P. A.: Recherche sur l'appareil vacuolaire dans les végétaux. Botaniste (Paris) **15**, 1 (1923). — Le vacuome de la cellule végétale. Protoplasmatologia (Wien), III D **1**, 1 (1956). — DANIELLI, J. F.: Morphological and molecular aspects of active transport. Symposia Soc. Exper. Biol. (Cambridge) **2**, 502 (1954). — DRAWERT, H.: Zur Frage der Stoffaufnahme durch die lebende pflanzliche Zelle. IV. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes und des Außenmediums auf die Harnstoffaufnahme. Planta (Berl.) **35**, 579 (1948). — Zellmorphologische und zellphysiologische Studien an Cyanophyceen. I. Literaturübersicht und Versuche mit *Oscillatoria borneti* ZUKAL. Planta (Berl.) **34**, 161 (1949). — ELO, J. E.: Vergleichende Permeabilitätsstudien an niederen Pflanzen. Ann. bot. Soc. zool-bot. fenn. (Helsinki) **8**, 6 (1937). — FITTING, H.: Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. Jb. wiss. Bot. (Lpz.) **56**, 1 (1915). — Untersuchungen über isotonische Quotienten und ihren Nutzen für Permeabilitätsbestimmungen. Jb. wiss. Bot. (Lpz.) **57**, 553 (1917). — FOLLMANN, G.: Die Beziehungen zwischen Reizplasmolyse und nichtosmotischen Wasserverschiebungen. Naturwiss. (Berl.) **42**, 633 (1955). — Die Permeabilitätsreihe von *Leptocylindrus adriaticus* SCHROEDER und das Problem der „spezifischen Diatomeen-Permeabilität". Naturwiss. (Berl.) **43**, 306 (1956). — Über Kappenplasmolyse und Vakuolenkontraktion. II. Die Reizplasmolyse mariner Planktondiatomeen. Planta (Berl.) **48**, 393 (1957a). — Die Anelektrolytaufnahme der Auxosporen zentrischer Diatomeen. Naturwiss. (Berl.) **44**, 567 (1957b). — GEITLER, L.: Die Differenzierung des Protoplasten der Diatomee *Synedra*. Österr. bot. Z. (Wien) **95**, 345 (1949). — GOLDACRE, R. J.: The folding and unfolding of protein molecules as a basis of osmotic work. Internat. Rev. Cytology **1**, 135 (1952). — GROSS, F.: The osmotic relations of the plancton diatom *Ditylum brightwellii* WEST. J. Mar. Biol. Assoc. (Plymouth) **24**, 381 (1940). — HACKETT, D. P., and K. V. THIMANN: The nature of auxin-induced water uptake by potato tissue. II. The relation between respiration and water absorption. Amer. J. Bot. (Baltimore) **40**, 183 (1953). HÄRTEL, O.: Gerbstoffe als Ursache „voller" Zellsäfte. Protoplasma (Wien) **40**, 333 (1950). — HALKET, A. C.: On various methods for determining osmotic pressures. New Phytologist **12**, 164 (1913). — HANSEN, J. B., and J. BONNER: The relationship between salt and water uptake in Jerusalem artichoke tuber tissue. Amer. J. Bot. (Baltimore) **41**, 702 (1954). — HARRIS, E. J.: Transport through biological membranes. Annual Rev. Physiol. (Palo Alto) **19**, 13 (1957). — HINZPETER, A.: Schnell arbeitendes Osmometer für medizinische und biologische Zwecke. Naturwiss. (Berl.) **39**, 481 (1952a). — Theoretische Grundlagen eines schnellarbeitenden Osmometers für biologische und medizinische Zwecke. Z. Elektrochem. (Weinheim) **56**, 683 (1952b). — HÖFLER, K.: Aus der Protoplasmatik der Diatomeen. Ber. dtsch. bot. Ges. (Berl.) **58**, 97 (1940). — Unsere derzeitige Kenntnis von spezifischen Permeabilitätsreihen. Ber. dtsch. bot. Ges. (Berl.) **60**, 179 (1942). — Fettspeicherung und Zuckerpermeabilität einiger Diatomeen. Protoplasma (Berl.) **38**, 79 (1943). — Zellphysiologische Studien an Meeresalgen. Ber. dtsch. bot. Ges. (Berl.) **69**, 301 (1956). — HOFMEISTER, L.: Verschiedene Permeabilitätsreihen bei ein und derselben Zellsorte von *Ranunculus repens*. Jb. wiss. Bot. (Lpz.) **86**, 401 (1938). — Über die Permeabilitätsbestimmung nach der Deplasmolysezeit. Sitzgsber. österr. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl., Abt. I **157**, 83 (1948). — HUBER, B., u. L. BAUER: Wasserumsatz und Stoffbewegungen. Fortschr. Bot. (Berl.) **17**, 483 (1955). — HUSTEDT, F.: Die Kieselalgen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz. In RABENHORST, Kryptogamenflora, Bd. 7, S. 1. Leipzig 1930. — Bacillariophyta.

In PASCHER, Süßwasserflora, Bd. 10, S. 1. Jena 1930. — KATHEN, H.: Über die Ermittlung der chemischen Konstitution von Algenlipoiden mit Hilfe der Adsorptionsmethode. Arch. Mikrobiol. (Berl.) **14**, 602 (1949). — KENDA, G., u. F. WEBER: Rasche Vakuolen-Kontraktion in *Cerinthe*-Blütenblattzellen. Protoplasma (Wien) **41**, 458 (1952). — KEPES, A.: Métabolisme oxydatif lié fonctionnement de la galactoside-perméase d'*Escherichia coli*. C. r. Acad. Sci. (Paris) **244**, 1550 (1957). — KOLBE, R. W.: Grundlinien einer allgemeinen Ökologie der Diatomeen. Erg. Biol. (Lpz.) **9**, 221 (1932). — KORSHIKOV, A. A.: On the origin of the diatoms. Beih. bot. Zbl. (Dresden) (Abt. I) **46**, 460 (1930). — KRAMER, P. J.: The uptake of water by plant cells. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 2, S. 316. Berlin 1956. — KREBS, I.: Beiträge zur Kenntnis des Desmidiaceenprotoplasten. III. Permeabilität für Nichtleiter. Sitzgsber. österr. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl., Abt. I **161**, 291 (1952). — KÜSTER, E.: Pathologie der Pflanzenzelle. Protoplasma-Monogr. (Berl.) **3**, 37 (1929). — LATIES, G.: The osmotic inactivation in situ of plant mitochondrial enzymes. J. of Exper. Biol. (Oxford) **5**, 49 (1954). — LENK, I.: Über die Plasmapermeabilität einer *Spirogyra* in verschiedenen Entwicklungsstadien und zu verschiedener Jahreszeit. Sitzgsber. österr. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl., Abt. I **162**, 4 (1953). — Vergleichende Permeabilitätsstudien an Süßwasseralgen. Sitzgsber. österr. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl., Abt. I **165**, 173 (1956). — LEPESCHKIN, W. W.: Zellnekrobiose und Protoplasmatod. Protoplasma-Monogr. (Berl.) **12**, 31 (1937). — LEWIN, J. C.: Silicon metabolism in diatoms. III. Respiration and silicon uptake in *Navicula pelliculosa*. J. Gen. Physiol. **39**, 1 (1955). — LÜDERS, J.: Beobachtungen über die Organisation, Teilung und Kopulation der Diatomeen. Bot. Z. (Jena) **41**, 122 (1862). — LUYET, B. J., and P. M. GEHENIO: The physical states of protoplasm at low temperatures. Biodynamica **41**, 1 (1939). — LYNEN, F.: Der Fettsäurecyclus. Angew. Chem. (Weinheim) **67**, 463 (1955). — MARKLUND, G.: Vergleichende Permeabilitätsstudien an pflanzlichen Protoplasten. Acta bot. fenn. (Helsinki) **18**, 1 (1936). — LUNDEGÅRDH, H.: Anion respiration. Symposia Soc. Exper. Biol. **8**, 262 (1954). — MEYER, K. H., u. R. W. JEANLOZ: Glykogen-Komplexe. Helvet. chim. Acta **26**, 1784 (1943). — PICHOTKA, J., u., W. HÖFLER: Untersuchungen über die Wasserbindung in organischen Systemen. II. Die Wasserbindung in pflanzlichem Gewebe. Arch. exper. Path. u. Pharmakol. (Berl.) **222**, 464 (1954). — PONZ, E., y R. PARÉS: Membrane inhibitors of glucose transport in yeast. Rev. espań. Fisiol. **11**, 253 (1955). — PRELL, H.: Untersuchungen über die Aufnahme von Anelektrolyten in Zellen di- und polyploider Pflanzen. Planta (Berl.) **41**, 480 (1953). — Die Wasserbilanz plasmolysierter Protoplasten. Planta (Berl.) **46**, 272 (1955a). — Die nichtosmotische Harnstoffaufnahme und ihre Beziehungen zur Wasserbilanz plasmolysierter Zellen. Planta (Berl.) **46**, 361 (1955b). — PRICE, C. A., and R. E. DAVIES: Active transport of water by mitochrondria. Biochemic. J. **58**, 17 (1954). — REIMERS, I.: Vergleichende zellphysiologische Studien an einigen etiolierten und grünen mono- und dikotylen Pflanzen. Planta (Berl.) **49**, 455 (1957). — RICHTER, O.: Reinkulturen von Diatomeen. Ber. dtsch. bot. Ges. (Berl.) **21**, 493 (1903). — RIEDER, P.: Über die Zuckeraufnahme von Hefezellen. Ber. schweiz. bot. Ges. **61**, 539 (1951). — ROBERTSON, R. N.: Mechanism of absorption and transport of inorganic nutrients in plants. Annual Rev. Plant. Physiol. (Palo Alto) **2**, 1 (1951). — ROSENBERG, T.: The concept and definition of active transport. Symposia Soc. Exper. Biol. (Cambridge) **8**, 27 (1954). — ROSENBERG, T., and W. WILBRANDT: Enzymatic processes in cell membrane penetration. Internat. Rev. Cytol. (Cambridge) **1**, 65 (1952). — The kinetics of membrane transport involving chemical reactions. Exper. Cell Res. (New York) **9**, 49 (1955). — ROTHSTEIN, A.: The enzymology of the cell surface. Protoplasmatologia (Wien), II E **4**, 1 (1954). —

SCHAEFER, G.: Über die Wirkung von Stoffwechselfaktoren auf den Plasma-Wand-Kontakt in der Wurzel von *Lemna minor* L. Flora (Jena) **143**, 327 (1956). — SCHLENK, W.: Über Additionsverbindungen des Harnstoffs. Liebigs Ann. Chem. **565**, 204 (1949). — SCHMIDT, H.: Plasmolyse und Permeabilität. Jb. wiss. Bot. (Jena) **83**, 470 (1936). — SCHREIBER, E.: Die Reinkultur von marinem Phytoplankton und dessen Bedeutung für die Produktionsfähigkeit des Meereswassers. Wissensch. Meeresunters., Abt. Helgoland (Kiel) **16**, 1 (1928). — STOSCH, H. A. v.: Über das Leukosin, den Reservestoff der Chrysophyten. Naturwiss. (Berl.) **38**, 192 (1951). — STREET, H. E., and L. S. LOVE: The mechanism of sucrose absorption by excised roots. Ann. of Bot. **14**, 307 (1950). — STUDENER, O.: Über die elektroosmotische Komponente des Turgors und über chemische und Konzentrationspotentiale pflanzlicher Zellen. Planta (Berl.) **35**, 427 (1948). — STUMPF, P. K.: Biochemistry of fat formation. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 7, S. 201. Berlin 1957. — TAFT, D. L., u. J. LEVITT: Investigations of cytoplasmic particulates and proteins of potato tubers. V. Osmotic behaviour of mitochondria. Physiol. Plantarum (Copenh.) **10**, 76 (1957). — THIMANN, K. V., and G. M. LOOS: Protein synthesis during water uptake by tuber tissue. Plant Physiol. (Lancaster) **32**, 274 (1957). — URSPRUNG, A.: Die Messung der osmotischen Zustandsgrößen pflanzlicher Zellen und Gewebe. In ABDERHALDEN, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. XI/4, S. 7. 1939. — TODD, G. W., and J. LEVITT: Bound water in *Asqergillus niger*. Plant Physiol. **26**, 331 (1951). — WALTER, H.: Die Hydratur der Pflanze. Jena 1931. — WEBER, F.: Plamolyseresistenz und -permeabilität bei Narkose. Protoplasma (Berl.) **14**, 179 (1931a). — Harnstoffpermeabilität ungleich alter *Spirogyra*-Zellen. Protoplasma (Berl.) **12**, 129 (1931b). — WILDERVANCK, L. S.: Osmotic adaptation of *Nitella translucens* AGARDH. Rec. Trav. bot. néerl. **29**, 227 (1932).

Dr. GERHARD FOLLMANN,
Institut für Virusserologie der Biologischen Bundesanstalt
für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig, Messeweg 11/12

# Autorenverzeichnis des 50. Bandes


Bartels, P., und H.-O. Schwantes, Mikrospektrographische Messungen zur Aufnahme und Speicherung von Neutralrot durch lebende Zellen von Allium cepa. S. 1

Betz, A., Zur Atmung wachsender Wurzelspitzen. III. Das Verhalten in Stickstoff- und hochprozentiger Sauerstoffatmosphäre; die Pasteursche Reaktion. S. 122

Böhmer, H., Untersuchungen über das Wachstum und den Feinbau der Zellwände in der Avena-Koleoptile. S. 461

Brabec, F., Über Beziehungen zwischen Atmungswerten und Zellgrößen. S. 622

Braun, M., Zur Kenntnis von Epilobium, besonders E. alpestre (Trigonum). I. Teil: Die Vererbung der Gliederzahl in den Blattwirteln. S. 144

— Zur Kenntnis von Epilobium. II. Teil: Entwicklungsgeschichte des Sprosses. S. 250

Bünning, E., und M. Tazawa, Über den Temperatureinfluß auf die endogene Tagesrhythmik bei Phaseolus. S. 107

Ensgraber, A. s. Krüpe, M. S. 371

Follmann, G., Über Aufnahme und Bindung von Wasser und Anelektrolyten durch Diatomeen-Zellen. S. 671

Frandsen, N. O. s. Schwarze, P. S. 353

Freytag, K., Über die Doppelbrechungserscheinungen an Zellwand und Cuticula von Drüsenhaaren. S. 41

Girbardt, M., Der Spitzenkörper von Polystictus versicolor (L.). S. 47

Guttenberg, H. v., und B. Reiff, Der Mechanismus der Narbenbewegung von Mimulus sp. in seiner Abhängigkeit von der oxydativen Atmung. S. 498

Hess, D., Die Regulatoren des Streckungswachstums bei Streptocarpus wendlandii Utrecht und ihre Veränderungen während der Blühinduktion. S. 504

Jarosch, R. s. Linser, H., und O. Kiermayer. S. 238

Kiermayer, O. s. Linser, H., und R. Jarosch. S. 238

Kirschner, R. s. Linser, H. S. 211

Klämbt, H.-D., Untersuchungen über Entwicklung und Wuchsstoffhaushalt bei Ribes-Arten. I. Mitt.: Cytologische und wuchsstoffphysiologische Untersuchungen der Samen je einer Kultursorte von Ribes nigrum L. und Ribes petraeum Wulf. × Ribes multiflorum Kit. nach Selbst- und Fremdbestäubung. S. 526

Krüpe, M., und A. Ensgraber, Untersuchungen über die Natur der „Phytagglutinine" in chemischer, immunochemischer und pflanzenphysiologischer Sicht. I. Mitteilung: Anatomische Studien über den Ort ihres Vorkommens in höheren Samenpflanzen. S. 371

Landmann, W. s. Steffen, K. S. 423

Lenski, I., Über die Brutzwiebelbildung auf den Blättern von Drimiopsis kirkii Bak. S. 579

Libbert, E., Die Regulation des Wurzelwachstums durch synthetische und endogene Inhibitoren. S. 25

Linser, H., und R. Kirschner, Zur Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. I. Die Einwirkung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure auf Erodium cicutarium. S. 211

— O. Kiermayer und R. Jarosch, Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. II. Formbildende Wirkungen verschiedener Stoffe bei Trifolium pratense. S. 238

Lyr, H., Über den Nachweis von Oxydasen und Peroxydasen bei höheren Pilzen und die Bedeutung dieser Enzyme für die Bavendamm-Reaktion. S. 359

Melchior, G. H., Über den Abbau von Indolderivaten. I. Mitteilung: Photolyse durch ultraviolettes Licht. S. 262

— Über den Abbau von Indolderivaten. II. Abbau durch ein Enzymsystem aus Weißkohl und ein Vergleich der Indolderivate in UV-bestrahlten und unbestrahlten Weißkohlpflanzen. S. 557

Michaelis, P., Genetische, entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen zur Plasmavererbung. II. Mitteilung: Über eine Plastidenmutation mit intracellularer Wechselwirkung der Plastiden, zugleich ein Beitrag zur Methodik der Plasmonanalyse und zur Entwicklungsgeschichte von Epilobium. S. 60

Napp-Zinn, K., Untersuchungen über das Vernalisationsverhalten einer winterannuellen Rasse von Arabidopsis thaliana. S. 177

Reiff, B. s. Guttenberg, H. v. S. 498

Schlafke, E., Kritische Untersuchungen zur Wanderung von Fluorochromen in Blättern. S. 388

Schwantes, H.-O. s. Bartels, P. S. 1

Schwarze, P., und N. O. Frandsen, Beobachtungen über den Tryptophanabbau durch Pilze. S. 353

Steffen, K., und W. Landmann, Entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen am Balkentapetum von Gentiana cruciata L. und Impatiens glandulifera Royle. S. 423

— und F. Walter, Die Chromoplasten von Solanum capsicastrum L. und ihre Genese. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Plastidenmetamorphose. S. 640

Stein von Kamienski, E., Untersuchungen über die flüchtigen Amine der Pflanzen. I. Mitteilung: Methodik der Trennung und des Nachweises flüchtiger Amine. S. 291

— Untersuchungen über die flüchtigen Amine der Pflanzen. II. Mitteilung: Die Amine von Blütenpflanzen und Moosen. S. 315

— Untersuchungen über die flüchtigen Amine der Pflanzen. III. Mitteilung: Die Amine von Pilzen. Über den Weg der Aminbildung in Pflanzen. S. 331

Tazawa, M. s. Bünning, E. S. 107

Walter, F. s. Steffen, K. S. 640

Wild, A., Experimentelle Beeinflussung des Granamusters einer abweichenden Plastidensorte von Antirrhinum majus. S. 379

Wolf, J., Einfluß einer vorangegangenen Lichtperiode auf die Größe der $CO_2$-Ausscheidung grüner (unreifer) Äpfel im Dunkeln. Kurze Mitteilung. S. 576